

Aus der
Universitätsklinik für Urologie Tübingen

**Immunhistochemische Darstellung peripherer Nerven
an radikalen Zystoprostektomiepräparaten – Anatomisch
quantitative Analyse extramuraler Nerven im Kontext
nervschonender Operationstechniken**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen**

vorgelegt von

Drechsel-Grau, Moritz Edgar Eugen

2023

Dekan: Professor Dr. B. Pichler

1. Berichterstatter: Professor Dr. A. Stenzl

2. Berichterstatter: Professor Dr. M. Held

Tag der Disputation 04.07.2023

In Dankbarkeit meinen Eltern gewidmet.

I. Inhaltsverzeichnis

I.	Inhaltsverzeichnis	I
II.	Abkürzungsverzeichnis	IV
I.	Einleitung	1
I.1	Radikale Beckenchirurgie im Kontext nerv- und funktionserhaltender Operationstechniken am Beispiel der radikalen Zystektomie	1
I.1.1	Überblick	1
I.1.2	Harnblasenkarzinom	3
I.2	Radikale Zystektomie	9
I.2.1	Operatives Verfahren	9
I.2.2	Funktionelle Problematik	11
I.3	Neuroanatomie im kleinen Becken	13
I.3.1	Funktionseinheiten und Faserqualitäten	13
I.3.2	Plexus hypogastricus inferior	14
I.3.3	Distale Abgänge des Plexus hypogastricus inferior	16
I.3.4	Neurovaskuläres Bündel und periprostatiche Nerven	17
I.3.5	Perivesicale Nerven	18
I.4	Fragestellung der Arbeit	19
II.	Material und Methoden	20
II.1	Material	20
II.1.1	Tabelle der verwendeten Laborgeräte	20
II.1.2	Tabelle der verwendeten Laborverbrauchsmaterialien	21
II.1.3	Tabelle der verwendeten kommerziellen Reagenzien und Medien	21
II.1.4	Wasserstoffperoxid (H ₂ O ₂) 3%	23
II.1.5	Tris(hydroxymethyl)aminomethan-Puffer [Tris-Puffer] (pH 7,6)	23
II.2	Patientenkollektiv	24
II.3	Aufarbeitung des Probenmaterials	25
II.3.1	Gewinnen und Fixieren des Probenmaterials	25
II.3.2	Erstellen der Großflächenschnitte	27
II.4	Immunhistochemische Färbung	28
II.4.1	Immunhistochemische Methode	28
II.4.2	Färbeprotokoll PGP 9.5	29

II.5	Auswertung	31
II.5.1	Mikroskopische Auswertung.....	31
II.5.2	Definition des Auszählbereichs	34
II.5.3	Dokumentation	37
II.5.4	Definition des Auswertungsbereichs und der Mindeststich-probengröße 38	
II.6	Statistische Aufarbeitung der Daten	40
II.6.1	Nervenhäufigkeiten („Nervendichte“)	40
II.6.2	Verteilungsanalyse	41
II.6.3	Korrelationsanalyse.....	41
II.6.4	Hypothesentests.....	41
II.7	Software.....	42
II.8	Ethikvotum	42
III.	Ergebnisse	43
III.1	Datengrundlage	43
III.2	Nervendarstellung und Färbeergebnis.....	45
III.3	Mittelwertvergleich von absoluten Nervenhäufigkeiten.....	47
III.3.1	Vergleich zwischen Ebenen	49
III.3.2	Vergleich zwischen Auswertungssegmenten	51
III.3.3	Kombinierter Vergleich von Ebenen und Auswertungs-segmenten über alle Schalen (0-20mm)	54
III.3.4	Gesamtnervenanzahl (Nerven \leq 200 μ m).....	58
III.3.5	Kombinierter Vergleich von Ebenen und Auswertungs-segmenten in Schale A (0-5mm).....	59
III.3.6	Kombinierter Vergleich von Ebenen und Auswertungs-segmenten in Schale B (5-10mm).....	63
III.3.7	Kombinierter Vergleich von Ebenen und Auswertungs-segmenten in Schale C' (10-20mm).....	67
III.3.8	Verteilungsanalyse	70
III.4	Samenblasen	72
III.4.1	Verteilung der Gesamtnervenanzahl differenziert nach Ebenen und Vorhandensein von Samenblasengewebe	72
III.4.2	Anatomische Deskription.....	74
III.4.3	Korrelation von Samenblasengewebe und Nervenanzahl	78

III.4.4	Mittelwertvergleich zwischen Proben mit und ohne Samenblasengewebe 79	
IV.	Diskussion	81
IV.1	Methodische Einordnung	81
IV.2	Perivesikale Verteilung autonomer Nerven.....	81
IV.2.1	Plexus hypogastricus inferior und Samenblasen	81
IV.2.2	Nervenverteilung an der Harnblasenoberfläche und kraniale Homogenisierung	85
IV.2.3	Zentrifugale perivesikale Nervenverteilung	88
IV.3	Harnblasenhals und Harnblasen-Prostata-Übergang	92
IV.3.1	Quantitative Einordnung nach kaudal ziehender Nervverläufe	92
IV.3.2	Qualitative Einordnung nach kaudal ziehender Nervenverläufe	94
IV.4	Chirurgischer Ansatz eines größtmöglichen Nerverhalts unter Berücksichtigung der neuroanatomischen Erkenntnisse dieser Arbeit.....	100
V.	Zusammenfassung	104
III.	Abbildungsverzeichnis.....	106
IV.	Tabellen.....	112
V.	Literaturverzeichnis	114
VI.	Limitationen	V
VII.	Erklärung zum Eigenanteil	VI
VI.	Danksagung	VII

II. Abkürzungsverzeichnis

BCG	Bacillus-Calmette-Guérin
CT	Computertomographie
HCa	Harnblasenkarzinom
HPÜ	Harnblasen-Prostata-Übergang
KM	Kontrastmittel
MIBC	Muskelinvasives Harnblasenkarzinom
MRT	Magnetresonanztomographie
NMIBC	Nicht-Muskelinvasives Harnblasenkarzinom
NVB	Neurovaskuläres Bündel
PDD	Photodynamische Detektion
PHI	Plexus hypogastricus inferior
TUR-B	Transurethrale Blasentumorresektion
ZPP	Zystoprostatektomiepräparat

INHALTSVERZEICHNIS

I. Einleitung

I.1 Radikale Beckenchirurgie im Kontext nerv- und funktionserhaltender Operationstechniken am Beispiel der radikalen Zystektomie

I.1.1 Überblick

Hauptindikation für beckenchirurgische Eingriffe und deren Etablierung stellten historisch vor allem onkologische Indikationen dar. Dabei lag der Fokus maßgeblich auf der suffizienten onkologischen Therapie, sowie einem möglichst blutungsarmen Vorgehen. Postoperative funktionelle Komplikationen an umliegenden Organen wurden weniger als drängende Probleme wahrgenommen. Die vergangenen Jahrzehnte waren durch die stetige Weiterentwicklung und Verfeinerung onkologischer Operationstechniken, sowie durch einen zunehmenden Fokus der Patienten auf die postoperative Lebensqualität nach onkologischen Eingriffen geprägt. Konsekutiv lässt sich ein zunehmender Trend zu funktionserhaltenden Operationsansätzen beobachten. Dem autonomen Nervengeflecht des Plexus hypogastricus inferior (PHI) wurde und wird seither großes Augenmerk beigemessen. Die komplexe Vernetzung von parasymphatischen und sympathischen Nerven, aber auch die Interaktionen mit sensorischen Nervenfasern machen es bis heute schwer die Auswirkungen eines nervschonenden Operierens oder iatrogenen Nervenschadens nach Beckenchirurgie vorherzusagen (Stenzl et al., 2004).

Für die nerv- und funktionserhaltende Beckenchirurgie in der Urologie waren hierbei die seit Beginn der 1980er Jahren von Patrick C. Walsh und Kollegen gewonnenen Erkenntnisse zur Neuroanatomie des Beckens maßgeblich. Erste klinische Untersuchungen zur funktionserhaltenden Beckenchirurgie im Rahmen von radikalen Prostatektomien und Zystektomien wurden in der Folge an der Johns-Hopkins-Universität und anderen Kliniken durchgeführt (Walsh and Donker, 2002; Walsh and Mostwin, 1984; Walsh and Schlegel, 1988). Mit ca. 60.000 bzw. 12.000 Neuerkrankungen pro Jahr stellen Prostata- und

Harnblasenkarzinom (HCa) bei Männern die häufigste und vierthäufigste Tumorentität nach Inzidenz in Deutschland dar. Damit sind sie zusammengesehen für über ein Viertel der Gesamtinzidenz an malignen Tumorerkrankungen in Deutschland verantwortlich (Robert-Koch-Institut, 2016a). Unter den Erkrankten ist wiederum ein beträchtlicher Anteil auf eine radikale beckenchirurgische Intervention angewiesen. So wurden 2018 bei Männern über 25.000 Prostatovesikulektomien und über 6500 Zystektomien durchgeführt (Statistisches Bundesamt, 2019). Diese Zahlen verdeutlichen neben den großen onkologischen Herausforderungen hinsichtlich dieser urologischen Tumorentitäten auch die Relevanz eines weiter vertieften Verständnisses der neuroanatomischen und funktionellen Zusammenhänge im kleinen Becken. Ein detailliertes Wissen in diesen Bereichen stellt die Grundlage für weiterführende Optimierungen chirurgischer Techniken und Vorgehensweisen dar.

In den vergangenen 15 Jahren wurden relevante Fortschritte der neuroanatomischen Kenntnisse im Bereich des kleinen Beckens vor allem kaudal der Harnblase erzielt. Arbeitsgruppen um Eichelberg et al., Ganzer et al., Alsaid et al. oder Sievert et al. trugen hierbei maßgeblich zu unserem heutigen differenzierten Wissensstand der periprostatichen Nervenverteilung bei. Analog hierzu steht die Erarbeitung präziser und detaillierter Informationen zur perivesikalen Neuroanatomie noch weitestgehend aus.

Die vorliegende Arbeit setzt sich zum Ziel, in Anlehnung an die genannten Vorarbeiten an der Prostata, eine detaillierte neuroanatomische Beschreibung der perivesikalen Nervenverteilung, sowie des Harnblasen-Prostata-Übergangs (HPÜ) beim Mann beizusteuern. Die Erkenntnisse sollen eine tiefergehende Grundlage zur Optimierung nervschonender Operationstechniken bei Zystoprostatektomie schaffen.

I.1.2 Harnblasenkarzinom

Einen wichtigen Grund für Defekte des funktionell relevanten neuroanatomischen Nervengeflechts rund um den PHI stellt die, meist bei HCa durchgeführte, radikale Zystektomie dar. Diesen Sachverhalt spiegelt auch das Patientenkollektiv dieser Studie wider. Bei 10/13 Patienten stellte ein HCa die Indikation zur Zystektomie dar.

Daher soll im Folgenden ein kurzer Überblick über diese Tumorentität erfolgen. Da das Patientenkollektiv ausschließlich männliche Probanden umfasst, beziehen sich sämtliche epidemiologische Daten, wenn nicht anderweitig gekennzeichnet, ausschließlich auf das HCa beim Mann.

Epidemiologie

Das HCa ist in Deutschland der maligne Tumor mit der vierthäufigsten Inzidenz bei Männern und der 14. häufigsten Inzidenz bei Frauen. Männer erkranken im Schnitt dreimal häufiger an HCa als Frauen. Über alle Stadien hinweg sind bei Erstdiagnose bereits ca. 25% aller Tumoren in die Lamina muscularis propria eingewachsen und wachsen damit muskelinvasiv (Robert-Koch-Institut, 2016b). Bei Patienten mit muskel-invasivem HCa (MIBC) stellt sich in den allermeisten Fällen die Indikation zur radikalen Zystektomie. Ein organerhaltendes Vorgehen kann nur einer kleinen Zahl an Patienten nach strenger Selektion anhand onkologischer und funktioneller Kriterien angeboten werden. Die absolute 5-Jahres-Überlebensrate über alle Tumorstadien hinweg liegt bei ca. 77%. Ohne Berücksichtigung der nicht-invasiven papillären (pTa) und in-situ (pTis) Formen sind es jedoch lediglich ca. 44%. Unbehandelt versterben 2 Jahre nach Symptombeginn bis zu ca. 90% aller Patienten über alle Tumorstadien hinweg (Prout and Marshall, 1956). Das mittlere Erkrankungsalter liegt bei 71,9 Jahren (Robert-Koch-Institut, 2016a, 2019).

Symptomatik

Die klinischen Zeichen des HCa sind unspezifisch. Zu den typische Symptome zählen Makrohämaturie, irritative Symptome wie Dysurie oder Pollakisurie und Harnwegsinfekte (Shephard et al., 2012). Vor allem Makrohämaturie gilt als

führendes Symptom, welches bei über zwei Dritteln aller Betroffenen auftritt, jedoch nur mit einem positiv prädiktiven Wert von 7,4% bei Männern assoziiert ist (Jones et al., 2007; Wallace and Harris, 1965).

Ätiologie

Eine klares Verständnis der Tumorgenese, wie es zum Beispiel durch die Adenom-Karzinom-Sequenz beim Kolonkarzinom besteht, ist beim HCa bisweilen nicht bekannt. Jedoch wurden eine Reihe von Risikofaktoren ermittelt. Vor allem Tabakkonsum gilt als Hauptrisikofaktor für die Tumorgenese. In bis zu 2/3 aller Fälle kann von einem Beitrag zur Tumorgenese durch renal eliminierte, im Tabakrauch enthaltener Karzinogene ausgegangen werden (Augustine et al., 1988; Brennan et al., 2000; Burger et al., 2013).

Darüber hinaus spielen weitere extrinsische- (chronische Entzündung, Umweltkarzinogene, Medikamente) und intrinsische Faktoren (Alter, Geschlecht, Genetik) eine Rolle in der Pathogenese (Burger et al., 2013).

Zudem kann die Einstufung des HCa als Berufskrankheit BK 1301 erfolgen. Entscheidend hierfür ist eine nachvollziehbare berufliche Exposition, vor allem gegenüber aromatischen Aminen. Diese können zum Beispiel in Folge der Verstoffwechslung von Azofarbstoffen im Körper freigesetzt werden (Butz, 2012; Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe, AWMF, 2020).

Pathologie und Klassifikation

HCa sind zu über 90% urothelialen Ursprungs (Lopez-Beltran and Cheng, 2006). Aufgrund der resultierenden klinisch-therapeutischen Konsequenz werden HCa typischerweise in muskelinvasive ($\geq pT2$) und nicht muskelinvasive Formen ($\leq pT2$) unterteilt. Aufgrund von Feldkanzerisierungs- und klonalen Ausbreitungsphänomenen neigen HCa zu multizentrischem Auftreten (Riede and Werner, 2017). Invasive Urothelkarzinome sind im Gegensatz zu nicht-invasiven Formen in >95% aller Fälle hochgradig enddifferenziert (G3) (Humphrey et al., 2016). Sie breiten sich über die Lamina propria hinweg durch die Tunica muscularis (T2) über die Harnblasenwand ins perivesikale retroperitoneale

Fettgewebe (T3) aus. So wird ab einem Stadium \geq pT2 von einem MIBC gesprochen. Im Stadium T4 kommt es per continuitatem zur lokalen Progression in Prostata- oder Samenblasenstroma (Amann et al., 2016).

Neue molekulargenetische Differenzierungen mittels mRNA-Expressionsanalyse lassen beim MIBC die Zuordnung zu drei wesentlichen Subtypen zu. Diese unterscheiden sich hinsichtlich Prognose und therapeutischen Ansatzpunkten. Unterschieden wird, aufgrund der molekulargenetischen Ähnlichkeit der Subtypen zum Mamma-Karzinom, zwischen basalem und luminalem Subtyp. Dabei ist der basale Subtyp mit einem schlechteren krankheitsspezifischen- und schlechteren Gesamtüberleben assoziiert. Ein dritter p53-like Subtyp zeichnet sich ferner durch eine Resistenz gegenüber neoadjuvanten Chemotherapien aus (Choi et al., 2014).

Wichtige weitere Prognosefaktoren stellen eine Lymphknotenmetastasierung (v.a. A. iliaca int. und Obturatoriusgruppe) und Blutgefäßinfiltration dar (Abol-Enein et al., 2004; Hara et al., 2001). Die hämatogene Metastasierung erfolgt meist in Leber, Lunge und Knochen (Abol-Enein et al., 2004; Wallmeroth et al., 1999).

Diagnostik

Primärdiagnostik

Die primäre Diagnostik des HCa erfolgt mittels invasiver, flexibler oder starrer Zystoskopie mit Weißlicht. Im Verdachtsfall folgt die transurethrale Blasentumorresektion (TUR-B) zur Diagnosesicherung. Eine photodynamische Detektion (PDD) mittels fluoreszenzbasierter TUR-B (5-Aminolävulinsäure [nicht mehr zugelassen], Hexaminolävulinsäure) kann die Detektionsrate, v.a. bei nicht-invasiven und multifokalen Karzinomen, sowie Carcinoma-in-situ, steigern. Die Kombination aus TUR-B und PDD stellt daher aktuell den Goldstandard zur Diagnosesicherung des HCa dar (Edwards et al., 2006; Filbeck et al., 2002; Stenzl et al., 2009; Yuan et al., 2013). Ergänzende diagnostische Verfahren sind die klinische Untersuchung auf Makrohämaturie, die Urinzytologie und die Untersuchung spezieller uringebundener molekularer Tumormarker. Als

etabliertes Verfahren stellt die Urinzytologie aktuell jedoch noch den Standard zur Primärdiagnose in Kombination mit der Zystoskopie dar (Ramakumar et al., 1999).

Staging

Nach erfolgter Primärdiagnostik eines HCa soll gemäß S3-Leitlinie zum HCa je nach Invasivität des Primärtumors eine weiterführende bildgebende Diagnostik zur stadienadaptierten Therapieplanung erfolgen. So soll beim nicht-muskelinvasiven Harnblasenkarzinom (NMIBC) eine weiterführende Bildgebung mittels Kontrastmittel (KM)-Computertomographie (CT) mit CT-Urographie oder mittels KM-Magnetresonanztomographie (MRT), oder mittels Ausscheidungsurogramm nur bei erhöhtem Risiko für ein synchrones Zweitkarzinom der Harnwege durchgeführt werden (Millán-Rodríguez et al., 2000; Palou et al., 2005). Im Falle eines MIBC hingegen ist eine weiterführende Schnittbildgebung mittels Ganzkörper-KM-CT (Thorax-Abdomen-Becken) und CT-Urographie, oder mittels KM-MRT obligat durchzuführen. Neben der Detektion synchroner Zeittumoren des Urothels kann so das lokale Infiltrationsausmaß des Primärtumors beurteilt, sowie eine mögliche Lymphknoten- und Fernmetastasierung festgestellt werden (Chernyak, 2011; Rajesh et al., 2011; van der Molen et al., 2008). Anhand dieser prätherapeutischen Staginguntersuchungen soll eine individuelle Therapieentscheidung getroffen werden (Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe, AWMF, 2020).

Multiparametrische MRT / VI-RADS

Studien zeigen jedoch, dass konventionelle klinische Stagingverfahren mittels TUR-B, sowie der beschriebenen etablierten bildgebenden Verfahren eine oftmals nur unzureichende Genauigkeit aufweisen. Insbesondere in Hinblick auf die Entscheidung zwischen einem organerhaltenden Vorgehen oder einer radikalen Zystektomie ist ein korrektes Staging jedoch elementar (Ficarra et al., 2005; van den Bosch and Alfred Witjes, 2011). Shariat et al. (2007) zeigten, dass 43% der primär als cT1 beschriebenen Tumoren in ihrer Ausbreitung

unterschätzt wurden und nach endgültigem pathologischem Staging im Falle einer Zystektomie hochgestuft werden mussten (Shariat et al., 2007). Auch Paulson et al. (1993) wiesen ähnlich hohe Raten fälschlicherweise zu tief eingestufte cT1 Tumoren nach (Paulson, 1993). Entsprechend wäre in diesen Fällen meist eine primär radikale Zystektomie anzustreben. Es ist daher anzunehmen, dass gerade bei diesem Patientenkollektiv hohe Chancen auf einen onkologisch vertretbaren umfassenden Nervenerhalt bestehen.

Neuartige bildgebende Verfahren, wie die multiparametrische MRT zeigen nun vielversprechende Ergebnisse hinsichtlich einer verbesserten klinischen Staginggenauigkeit. So soll eine exaktere Beschreibung des Infiltrationsausmaßes, sowie der extravasikalen Tumorausbreitung ermöglicht werden (Panebianco et al., 2016). Durch Anwendung des Vesical Imaging Reporting and Data System (VI-RADS) Score lassen sich Studien zufolge NMIBC von MIBC mit einer Genauigkeit von über 90% differenzieren (Del Giudice et al., 2020; Pecoraro et al., 2020; Wang et al., 2019). Ziel ist es eine präzisere Entscheidung bezüglich der Radikalität des therapeutischen Vorgehens zu ermöglichen. In wieweit multiparametrische MRT Verfahren in Zukunft auch Einfluss auf die Entscheidung und das Ausmaß einer möglichen intraoperativen Nervschonung bei radikalen Zystektomien haben werden bleibt mit Interesse abzuwarten.

Therapie

Nicht-muskelinvasives Harnblasenkarzinom

Die TUR-B gilt als Goldstandard, sowohl für die Diagnostik des HCa als auch für die Therapie des NMIBC. Trotz der Bedeutung der TUR-B als primäre Behandlungsoption für NMIBC ist die Rate an Residualtumoren, sowie Tumorrezidiven mit 30-75% und 30-70% in dieser Gruppe als sehr hoch anzusehen (Daniltchenko et al., 2005; Herr, 1999; Klän et al., 1991; Köhrmann et al., 1994; Richterstetter et al., 2012; Vianello et al., 2011). Um die Auftrittswahrscheinlichkeit von Residual- und Rezidivtumoren zu reduzieren, werden neben erweiterter TUR-B-Resektionstechnik mit zusätzlichen tiefen

Grund- und Randbiopsien, sowie zeitnaher Nachresektion bei inkompletter TUR-B auch Instillationstherapien angewandt. Nach aktueller S3-Leitlinie erfolgt die Indikationsstellung der konkret angewandten Instillationstherapie anhand der Zuteilung zu einer von drei Risikogruppen bezüglich Rezidiv- und Progressionsrisiko (low-risk, intermediate-risk und high-risk) (Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe, AWMF, 2020). Grundlage für die Zuteilung zur jeweiligen Risikogruppe ist die EORTC-Risikoklassifizierung (Sylvester et al., 2006). Demnach sollen Patienten mit einem low-risk NMIBC nach erfolgter TUR-B lediglich eine Frühinstillationstherapie binnen 24h post-TUR-B – und keine weiteren adjuvanten intravesikalen Chemotherapien – erhalten (Abern et al., 2013; Liu et al., 2006; Sylvester et al., 2008). NMIBC der intermediate-risk Gruppe sollen post-TUR-B bei gleichwertigem Progressionsrisiko entweder eine adjuvante intravesikale Chemotherapie oder Instillationstherapie mit Bacillus-Calmette-Guérin (BCG) erhalten (Duchek et al., 2010; Malmström et al., 2009). Bei high-grade-Tumoren hingegen soll, aufgrund geringerer Progressionsraten vergleichen mit adjuvanten Chemotherapie-Instillationen, eine adjuvante BCG-Instillation (mit Erhaltungstherapie bei Komplettremission) durchgeführt werden (Böhle and Bock, 2004; Sylvester et al., 2002).

Muskelinvasives Harnblasenkarzinom

Die radikale Zystektomie mit pelviner Lymphadenektomie gilt als Therapie der Wahl beim MIBC ($\geq pT2$) und nicht fernmetastasierten HCa. Neoadjuvante- und adjuvante Chemotherapien werden zwischenzeitlich als Standard angewendet.

Der Überlebensvorteil nach definitiver Therapie beim MIBC reicht stadienabhängig von 33% bis 48% gegenüber dem eines nicht-definitiven Therapieansatzes (Andreassen et al., 2018). Das krankheitsspezifische 5-Jahres-Überleben nach Zystektomie liegt kumulativ über alle Stadien bei ca. 60% (Stein and Skinner, 2003; Wissing et al., 2019).

Harnblasenerhaltende Therapieansätze stellen hinsichtlich des Langzeitüberlebens nur in kombinierter multimodaler Anwendung (TUR-B,

Chemotherapie, Radiotherapie) eine mögliche, wenngleich wesentlich seltener angewandte Alternative zur Zystektomie dar.

Darüber hinaus stellt die radikale Zystektomie - im Sinne einer Frühzystektomie - eine wichtige Behandlungsoption bei sogenannten high-risk-NMIBC dar. Hintergrund sind die hohe Progressionsgefahr von high-risk NMIBC in ein (metastasiertes) MIBC, sowie die bereits beschriebenen hohen Raten an Stagingfehlern im Sinne eines Understagings (Fritsche et al., 2010; Shariat et al., 2007). Als high-risk-NMIBC, für welche die Option der Frühzystektomie diskutiert werden sollte, gelten dabei high-grade/G3-pT1 Tumoren, welche >3cm, oder multifokale auftreten, sowie mit begleitendem Carcinoma-in-situ auftreten. Ferner sollte eine Frühzystektomie bei high-risk-NMIBC unter BCG-Therapieversagen erwogen werden (Boström et al., 2010; Denzinger et al., 2008, 2008; Herr and Sogani, 2001; Tilki et al., 2010; van den Bosch and Alfred Witjes, 2011).

Dieses Patientenkollektiv der Frühzystektomie, welches bei noch limitierter Tumorausdehnung einem radikalchirurgischen Vorgehen unterzogen wird, weist hohe onkologischen Erfolgsaussichten auf (Denzinger et al., 2008; Herr and Sogani, 2001; Thalmann et al., 2004). Daher sollte beim Kollektiv der Frühzystektomien der klare Anspruch eines größtmöglichen Funktionserhalt erhoben werden.

I.2 Radikale Zystektomie

I.2.1 Operatives Verfahren

Im Rahmen der radikalen Zystektomie beim Mann werden standardmäßig die Harnblase samt Prostata, Samenblasen und ein Abschnitt der Samenleiter entfernt. Daher wird auch von der Zystoprostatovesikulektomie gesprochen. Mit der Zielsetzung einer möglichst umfassend nervschonenden Zystektomie existieren jedoch auch weiterführende organerhaltende Ansätze. So wird von einigen Autoren, bei Vorliegen definierter Selektionskriterien, ein prostataerhaltender Ansatz verfolgt. Möglich ist neben einer vollständigen Schonung der Prostata auch ein prostatakapselerhaltendes Vorgehen im Sinne

einer Adenomektomie. Ferner wird eine (zusätzliche) Schonung der Samenblasen in ausgewählten Fällen angewandt. Bei der Entscheidung für einen solch weiterführenden organerhaltenden Ansatz ist eine sorgfältige Abwägung zwischen postoperativem Funktionserhalt und einer ausreichenden Tumorkontrolle entscheidend (Jacobs et al., 2015; Muto et al., 2004; Tal and Baniel, 2005).

Im Falle einer Infiltration des urethralen Absetzungsrandes, oder des Prostatastromas wird zusätzlich eine Urethrektomie durchgeführt (Stein and Skinner, 2005). Hierzu empfiehlt die aktuelle S3-Leitlinie zum HCa die routinemäßige Durchführung einer intraoperativen Schnellschnittdiagnostik am urethralen Absetzungsrand (Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe, AWMF, 2020).

Bei bis zu einem Viertel der zystektomierten Patienten zeigt sich bereits zum Zeitpunkt der Operation ein nodal-positiver Befund. Daher erfolgt zusätzlich zur lokalen Tumorkontrolle in der Regel eine beidseitige pelvine Lymphadenektomie (Stein and Skinner, 2006). Entfernt wird üblicherweise sämtliches Lymph-, Binde- und Fettgewebe distal der Aortenbifurkation entlang der A. iliaca communis, der A. iliaca interna und der A. iliaca externa bis zum Ligamentum inguinale, sowie in der Fossa obturatoria (Madersbacher et al., 2004). Zu beachten ist, dass je nach Radikalität auch durch die Lymphadenektomie eine Schädigung des PHI oder präskral hinzutretender Nervenfasern erfolgen kann.

Zur Etablierung einer postoperativen Harnableitung nach radikaler Zystektomie existieren zwei grundsätzliche Ansätze. Einerseits die Technik der inkontinenten Harnableitung. Die häufigste gewählte Ableitung stellt hier das Ileum conduit dar. Andererseits besteht die Option zur kontinenten Harnableitung. Unterschieden wird hierbei zwischen einer intermittierend kutanen Katheterisierung eines aus Darmschlingen geformten Harnreservoirs (heterotope kontinente Harnableitung), sowie der orthotopen, an die eigene Urethra und den externen Sphinkter anastomosierten, aus Darmschlingen geformten Neoblase. Im letzteren Falle ist ein in seiner Funktion und Innervation ausreichend erhaltener Sphinkterkomplex relevant (Lin-Brandt et al., 2019).

I.2.2 Funktionelle Problematik

Bei jährlich etwa 8000 durchgeführten Zystoprostatektomien (davon etwa 6500 bei Männern) und einer postoperativen krebsspezifischen 5-Jahres Überlebenswahrscheinlichkeit über beide Geschlechter von über 65-75% kommt dem Thema der postoperativen Lebensqualität eine große Bedeutung zu (Gschwend et al., 2019; Kwon et al., 2014; Statistisches Bundesamt, 2019). Große Relevanz hat hierbei ein funktionell befriedigendes Ergebnis hinsichtlich postoperativer Potenz und Kontinenz.

Postoperative erektile Dysfunktion

Postoperative erektile Dysfunktion ist ein bedeutendes Problem nach radikaler Beckenchirurgie. So auch im Falle der Zystektomie. Sie ist, vor anderen Faktoren wie Libidoverlust, oder einer Orgasmusstörung, die häufigste Ursache einer sexuellen Dysfunktion nach radikaler Zystektomie (Modh et al., 2014).

Erektile Dysfunktion meint das Unvermögen eine für den Geschlechtsverkehr ausreichende Erektion zu erreichen und beizubehalten. (NIH Consensus Conference. Impotence. NIH Consensus Development Panel on Impotence, 1993).

Die Literatur zeichnet eine große Spannweite hinsichtlich des Auftretens erektiler Dysfunktion nach Zystektomie. Werte unter 20% bis hin zu Werten deutlich über 80% nach Zystektomie sind zu finden. So waren in einer Studie von Zippe et al. nur 7 von 49 Patienten (14,3%) nach einem medianen follow-up von 47,6 Monaten postoperativ in der Lage eine Erektion ausreichend zur vaginalen Penetration zu erlangen. Unter den nerverhaltend Operierten waren es immerhin 37,5% (Zippe et al., 2006). Zu deutlich höheren postoperativen Potenzraten nach nerverhaltender Technik kamen klinische Studien z.B. von Brendler et al. mit 64% (12 Monate Follow-up) und Walsh et al. mit 82% (12 Monate Follow-up) postoperativer Erektionsfähigkeit (Brendler et al., 1990; Walsh and Mostwin, 1984).

Uneinheitliche Definitionen von erektiler Dysfunktion, sowie Patientenalter, präoperative Funktion und gewählte Harnableitung stellen Erklärungsansätze für

die große Spannweite der zitierten Daten dar. Als wichtiger unabhängiger Prognosemarker gilt ferner die Anwendung nerverhaltender Operationstechniken.

Der Schonung des in den 1980er Jahren von Walsh und Donker beschriebenen neurovaskulären Bündels (NVB) und der darin enthaltenen Cavernosus Nerven wird hierbei eine große Bedeutung beigemessen (Kessler et al., 2005; Stenzl, 2009). Die positiv stimmenden Trends in der nerverhaltenden Chirurgie, aber auch die noch große Variation im klinischen Outcome nach nerverhaltender Zystektomie unterstreichen daher die Relevanz einer tiefergehenden und detaillierteren neuroanatomischen Kenntnis im kleinen Becken. (Kessler et al., 2005; Modh et al., 2014)

Postoperative Inkontinenz

Im Falle einer Zystoprostato-vesikulektomie mit orthotopem Harnabfluss mittels Neoblase, oder auch bei isolierten Prostatektomien spielt die Frage der postoperativen Kontinenz und Blasenentleerung eine entscheidende Rolle für die Patienten.

Hierbei zeigt sich ein, im Vergleich zur erektilen Funktion, deutlich homogeneres Bild: 12-18 Monaten nach Zystoprostatektomie mit orthotopem Blasenersatz sind ca. 90% der Patienten tagsüber kontinent und in der Lage zum spontanen Wasserlassen (Furrer et al., 2016). Demgegenüber zeigen sich nachts deutlich geringere Kontinenzraten. Studien von Turner et al. (1997) und Clifford et al. (2016) zufolge wiesen nach 12 Monaten nur 59% (Turner et al., 1997a) bzw. nach 18-36 Monaten 51% (Clifford et al., 2016) der Patienten eine hinreichende Nachtkontinenz nach nicht-nerverhaltender Zystektomie auf. Analog zu Ergebnissen im Rahmen von Prostatektomien konnte auch bei Zystektomien ein statistisch bedeutsamer Vorteil nerverhaltender Operationstechniken hinsichtlich der postoperativen Nachtkontinenz (und Tageskontinenz) gezeigt werden (Asimakopoulos et al., 2016; Kessler et al., 2005; O'Donnell et al., 1990; Turner et al., 1997a). Aufgrund der komplexen neuralen Innervation ist ein Erhalt von sowohl autonomen und somatischen, als auch afferenten und efferenten Fasern anzustreben (Amend and Stenzl, 2011). Analog zu den Überlegungen zur

erektilen Dysfunktion ist daher eine weitere Vertiefung der neuroanatomischen Kenntnisse auch für den postoperativen Kontinenzertalt von großer Bedeutung.

Zusammenfassend zeigte sich in den letzten Jahrzehnten eine zunehmende Fokussierung in der Beckenchirurgie auf lebensqualitätsrelevante Aspekte, wie dem postoperativen Potenz- und Kontinenzertalt. Vor allem nerverhaltende Operationstechniken in Verbindung mit einem zunehmend profunderen Verständnis der zugehörigen Neuroanatomie spielen eine große Rolle in der wissenschaftlichen Auseinandersetzung. Klar scheint, dass eine adäquat funktionierende Potenz- und Kontinenzfunktion auf einem komplexen Zusammenspiel autonomer und somatischer Nerven beruht (Alsaid, Moszkowicz et al., 2011). Eine operative Schonung entsprechender neuraler Strukturen wie dem NVB mit den darin verlaufenden erektilen Nerven rund um den PHI erscheint daher sinnvoll und kann - entsprechend der aktuellen S3-Leitlinie zum HCa (2020) - zum Ziel des Potenz- und Kontinenzertalts erfolgen.

Pionierarbeit in diesem Bereich leisteten in den 1980er Jahren vor allem die Arbeitsgruppen um Patrick Walsh et al. mit der Beschreibung des NVB, sowie mit ersten klinischen Studien zu nerverhaltenden Operationsverfahren. (Amend and Stenzl, 2011; Nyame et al., 2016; Walsh and Donker, 2002; Walsh and Schlegel, 1988).

I.3 Neuroanatomie im kleinen Becken

I.3.1 Funktionseinheiten und Faserqualitäten

Die Innervation der Beckenorgane erfolgt aus dem Zusammenspiel und der Kommunikation von Nervenfasern des autonomen und somatischen Nervensystems.

Dem allgemeinen Wissensstand zufolge wird die autonome Innervation der Becken- und Genitalorgane des kleinen Beckens über den PHI vermittelt. Hierzu gehört beim Mann die Innervation von Rektum, Harnblase, Samenblasen, Ductus deferens, Prostata, Urethra, sowie des Penis mitsamt Schwellkörpern. Unter parasympathischer Kontrolle steht dabei die zur Blasenentleerung führende Kontraktion des M. detrusor vesicae, sowie die zur Erektion führenden

vaskulären Vorgänge der Penisschwellkörper. Sympathisch kontrolliert sind dem gegenüber die kontinenzrelevante Kontraktion der Harnblasensphinkter und die Erschlaffung des *M. detrusor vesicae*, sowie die Kontraktion von Samenblasen und *Ductus deferentes* im Rahmen der Ejakulation. Damit trägt der PHI entscheidenden Anteil an der Kontinenz- und Potenzfunktion. (Schünke et al., 2012, p. 217; Walsh and Schlegel, 1988).

Die somatische Innervation der Becken- und Genitalorgane erfolgt über Anteile des *N. pudendus*. Dieser entspringt dem sakralen Plexus und verläuft um die *Spina ischiadica* in die *Fossa ischioanalis*. Anschließend durchläuft er den Pudenduskanal (auch Alcock-Kanal bezeichnet). Noch vor dem Durchdringen des urogenitalen Diaphragmas gibt er Äste ab, welche der Innervation des externen urethralen Sphinkters dienen. Darüber hinaus dient der *N. pudendus* der Innervation des externen Analsphinkters, der perinealen Haut und den umgebenden Muskeln der Schwellkörper (inkl. *M. bulbospongiosus* und *M. ischiocavernosus*), sowie der sensiblen Innervation des Penis (Alsaid, Moszkowicz et al., 2011; Amend and Stenzl, 2011; Grigorescu et al., 2008; Schraffordt et al., 2004).

Trotz der anatomisch getrennten Verläufe von autonomem und somatischem Nervensystem bestehen an diversen Stellen im Becken kommunizierende Äste zwischen diesen beiden Funktionseinheiten. Die daraus resultierende Plastizität in der Innervation der kontinenz- und potenzrelevanten Strukturen ist daher vor dem Hintergrund radikaler chirurgischer Interventionen im Beckenbereich von klinischer Bedeutung (Akita et al., 2003; Alsaid, Moszkowicz et al., 2011).

I.3.2 Plexus hypogastricus inferior

Der paarig angelegt PHI liegt beidseitig in den rektovesikalen Umschlagsfalten, welche die *Excavatio rectovesicalis* begrenzen (Amend and Stenzl, 2011). Dort befindet er sich zwischen Samenblasen und anterolateralem Mesorektum. Alsaid et al. (2010) und Walsh and Schlegel (1988) beschreiben ihn als ein viereckiges in sagittaler Ebene liegendes fächerförmiges Geflecht aus Nervenfasern und Ganglienzellen (siehe Abbildung 1). (Alsaid et al., 2010; Schwalenberg et al., 2010; Walsh and Schlegel, 1988). Eine detailliertere topographische

Beschreibung von Größe des PHI und dessen Bezug zu umliegenden Organen ist jedoch nach wie vor Teil des wissenschaftlichen Diskurses und wird zum Teil durch nicht eindeutig standardisierte Begrifflichkeiten erschwert.

Der PHI setzt sich hauptsächlich aus sympathischen und parasympathischen Anteilen zusammen. Die sympathischen Fasern des PHI entstammen größtenteils den thorakolumbalen Segmenten Th10-L2. Von dort verlaufen die Fasern paarig über die beiden sympathischen Grenzstränge via der lumbalen Nn. splanchnici auf Höhe der Aortenbifurkation in den singulären Plexus hypogastricus superior. Über die paarigen Nn. hypogastrici verlaufen die sympathischen Nervenfasern anschließend entlang der perirektalen Fascia pelvis parietalis nach ventrokaudal in den PHI (Amend and Stenzl, 2011, p. 48; Kessler et al., 2005; Röthlisberger et al., 2018). Ferner beschreiben einige Autoren einen zweiten Anteil sympathischer Fasern im PHI, welche aus dem zweiten und dritten sympathischen Beckenganglion über die Nn. splanchnici sacrales direkt zum PHI verlaufen (Mauroy et al., 2003; Schwalenberg et al., 2010).

Die parasympathischen Fasern des PHI entstammen den sakralen Segmenten S2-4 und erreichen über die Nn. splanchnici pelvici entlang der lateralen Anteile des Rektums den PHI (Amend and Stenzl, 2011, p. 48; Kessler et al., 2005; Schünke et al., 2012). Neben dieser Hauptmasse an autonomen Nervenfasern im PHI wird davon ausgegangen, dass auch einige afferente sensorisch-sensible Fasern dort integriert werden. Diese dienen wohl unter anderem der sensiblen Innervation der membranösen Urethra und spielen eine Rolle beim Kontinenzertalt (Hugonnet et al., 2001; Turner et al., 1997a). Im PHI werden somit komplexe Regelungs- und Steuermechanismen des unteren Harn- und Genitaltrakts vermittelt. Dies macht eine eindeutige Zuordnung von Verantwortlichkeiten oftmals zu einer schwierigen Herausforderung (Stenzl et al., 2004)

I.3.3 Distale Abgänge des Plexus hypogastricus inferior

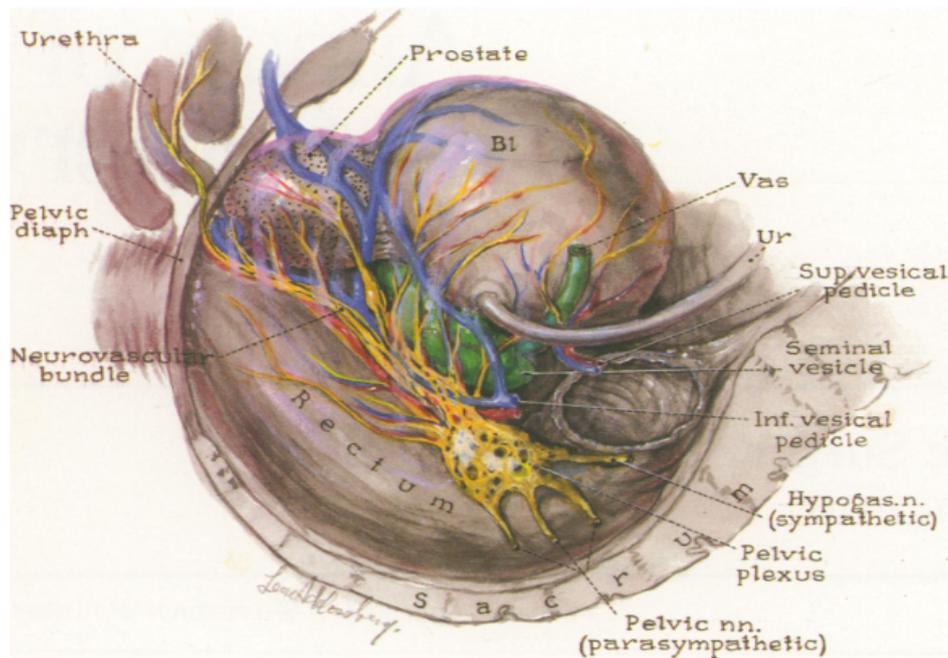


Abbildung 1: Laterale Ansicht der Neuroanatomie und Lagebeziehungen im kleinen Becken. Bl=Harnblase; Inf. vesical pedicle=unterer Gefäßstiel; Hypogastric n.=Nervus Hypogastricus; Neurovascular bundle=Neurovaskuläres Bündel; Pelvic plexus=Plexus hypogastricus inferior; Pelvic diaphragma=Beckenboden, Prostate=Prostata; Seminal vesicle=Samenblase; Sup. vesical pedicle=oberer Gefäßstiel; Ur=Ureter; Vas=Ductus Deferens (aus: Schlegel and Walsh, 1987)

Der PHI (siehe Abbildung 1) dient als Integrationsort verschiedener supralevatorischer Leitungsbahnen. Es kann angenommen werden, dass die Nervenfasern im PHI gruppiert nach anatomischer Zielregion vorliegen. Grob dienen die anterioren Anteile der Innervation der urogenitalen Organe und die posterioren Anteile der Innervation des Rektums (Amend and Stenzl, 2011). Im unteren Teil des PHI verlassen den PHI Nervenfasern in posterior-inferiorer, lateraler und anterior-inferiorer Richtung.

Die posterior-inferioren Äste ziehen in Richtung glatten Analsphinkter. Die lateralen in Richtung M. levator ani. Die anterioren Äste dienen der Innervation der urogenitalen Organe und formen das NVB. Auf 4-5 Uhr und 7-8 Uhr schlagen die NVBs einen absteigenden Verlauf an der Prostatawand in Richtung Urethra und Corpora cavernosa ein. Das NVB verläuft hierbei zwischen den zwei Blättern der lateralen Fascia pelvis im Bindegewebsdreieck zwischen M.levator ani, Prostata und Rektum (Madersbacher et al., 2004). Zur Innervation von

Samenblasen, Ductus deferens und Prostata zweigen einige Nervenfasern nach medial ab (Alsaid et al., 2010; Amend and Stenzl, 2011; Costello et al., 2004).

I.3.4 Neurovaskuläres Bündel und periprostatiche Nerven

Im NVB verlaufen Nervenfasern, welche der Innervation von Blasenhalshals, Samenblase, Ductus deferens, Prostata, urethralem Sphinkter und der Schwellkörper dienen (Alsaid, Bessedo et al., 2011). Der exakte Verlauf, sowie Struktur bzw. Aufteilung des NVB sind gleichermaßen Gegenstand der aktuellen wissenschaftlichen Debatte, wie eine detaillierte Funktionszuschreibung der beschriebenen Nerven.

In der klassischen, von Walsh and Donker (1982) geprägten, anatomischen Beschreibung des NVB wurde stets von einem klar definierten Nervenfaserbündel ausgegangen, welches paarig entlang der posterolateralen Seite der Prostata (4 Uhr und 8 Uhr) nach distal zur Urethra verläuft. In Bezug zur lateralen Urethrawand durchdringt das NVB, welches die Cavernosusnerven enthält, anschließend das urogenitale Diaphragma, und erreicht die penilen Schwellkörper (Walsh and Donker, 2002).

Neuere anatomische Studien stellen jedoch diese klassische Sicht eines klar definierten bilateral posterolateral verlaufenden Nervenfaserbündels in Frage. Eine Divergenz der Fasern des NVB lateral der Prostata, sowie deutliche interindividuelle Variationen werden beschrieben (Ganzer et al., 2008a; Kiyoshima et al., 2004). Einige Autoren sprechen von einem fächerförmigen Verlauf (Alsaid, Bessedo et al., 2011; Schwalenberg et al., 2010). Eichelberg et al. (2007) und Sievert et al. (2008) bestätigen zwar eine posterolaterale Verdichtung von Nervenfasern entlang der Prostata. Vor allem im basalen und mittleren Abschnitt der Prostata beschreiben sie jedoch einen substantiellen Anteil von 21%-28% / 28%-33% der erfassten Nerven über der anterioren Hälfte (Eichelberg et al., 2007; Sievert et al., 2008).

Auf Höhe des Prostataapex lassen sich laut Alsaid, Moszkowicz et al. (2011) schließlich drei Hauptäste des NVB beschreiben: Ein anteriorer Ast zur Innervation des urethralen Sphinkter-Komplexes. Die Innervation der

Schwellkörper erfolgt über einen anterior-lateralen und posterior-lateralen Ast. In anterior-lateraler Richtung formieren sich die Nn. cavernosi, welcher in Richtung Corpus cavernosus zieht. In posterior-lateraler Position verlaufen die Nn. spongiosi zur Innervation des Corpus spongiosum. (Alsaid, Moszkowicz et al., 2011; Ganzer et al., 2012; Sievert et al., 2019).

I.3.5 Perivesicale Nerven

Es existiert eine rege wissenschaftliche Auseinandersetzung mit einer Vielzahl an anatomischen Studien hinsichtlich des Nervenverlaufs entlang (lateral) und distal der Prostata. Anders stellt sich die Lage in Bezug auf die Harnblase dar. So herrscht zwar Einigkeit darüber, dass an der direkten Innervation von Harnblase und Sphinkteren sowohl autonome als auch somatische Nerven beteiligt sind. Ferner zeigt sich ein weitestgehend homogenes Bild hinsichtlich der subadventitialen Nervendichte entlang der Harnblasenwand. So kommen Studien an männlichen fetalen und adulten Kadavern, in Übereinstimmung mit dem klassischen dorsolateralen Verlauf des NVB, weitestgehend einig zu dem Schluss, dass die höchste subadventitiale Nervendichte an der posterioren Blasenseite im Bereich von Trigonum vesicae, Blasenhalss und der ureterovesicalen Einmündung liegt (Gosling and Dixon, 1974; Purves et al., 2017; Schwalenberg et al., 2010; Spradling et al., 2015). Detaillierte Beschreibungen des Verlaufs der extraadventitialen perivesikalen Nerven entlang der Harnblase stehen jedoch noch aus. Zwar wird davon ausgegangen, dass auch entlang der Harnblase eine Bündelung von Nervenfasern an der dorsalen Seite existiert (Kessler et al., 2005; Leissner et al., 2001). Hier sind jedoch weitere Anstrengungen notwendig, um den Verlauf und die Häufigkeitsverteilung der perivesikalen Nerven entlang der Harnblasenwand zuverlässig und exakt zu bestimmen.

I.4 Fragestellung der Arbeit

Gegenstand der vorliegenden Arbeit ist es, einen entscheidenden Beitrag zur anatomischen Beschreibung und quantitativen Erfassung des perivesikalen Nervengewebes, sowie des Nervengewebes am HPÜ zu leisten. Die in dieser Arbeit verwendete immunhistochemische Färbemethode (PGP 9.5) erlaubt zwar keine funktionelle Differenzierung der erfassten Nerven. Erste Überlegungen und Hypothesen zur funktionellen Einordnung des perivesikalen Nervengewebes strebt diese Arbeit dennoch an. Grundlage hierfür bilden bereits erfolgte Untersuchungen - unter anderem von dieser Arbeitsgruppe - zur funktionellen Qualität des periprostativen Nervengewebes (Costello et al., 2011; Ganzer et al., 2012; Sievert et al., 2019).

Wie bereits beschrieben ist ein fundiertes Verständnis der neuroanatomischen Gegebenheiten im kleinen Becken für radikale beckenchirurgische Eingriffe, wie z.B. der Zystoprostatovesikulektomie, essenziell. Neben einem onkologisch nachhaltigen, kann so auch ein für die Lebensqualität der Patienten funktionell befriedigendes Operationsergebnis erzielt werden.

Diese Arbeit hat daher den Anspruch einer differenzierten anatomischen Beschreibung des Nervengewebes entlang der Harnblase und des HPÜ. Beantwortet werden soll, wie sich das perivesikale Nervengewebe sektoriell entlang der Harnblasenwand verteilt. Ferner soll dessen Bezug zu anatomischen Leitstrukturen, wie den Samenblasen erörtert werden. Zudem soll die gewonnene anatomische Beschreibung zu den neuralen Leitstrukturen im kleinen Becken, sowie zum bereits detaillierter untersuchten periprostativen Nervengewebe in Relation gesetzt werden. So sollen letztlich mögliche chirurgische Konsequenzen für einen möglichst umfassenden Nerv- und Funktionserhalts bei der Harnblasen- und Prostatachirurgie diskutiert werden.

II. Material und Methoden

II.1 Material

II.1.1 Tabelle der verwendeten Laborgeräte

Laborgerät	Hersteller
Elektronische Pipette, PIPETBOY acu	INTEGRA Biosciences AG, Zizers, Schweiz
Eppendorf-Pipetten (diverse Volumina und Ausführungen)	Eppendorf AG, Hamburg
Erlenmeyer Kolben, 1000 ml	DWK Life Sciences GmbH, Wertheim/Main
Kühlplatte, COP 30	Medite Medical GmbH, Burgdorf
Magnetrührer, MR 82	Heidolph Instruments GmbH & CO. KG, Schwabach
Messzylinder, 250ml	Hirschmann Laborgeräte GmbH & Co. KG, Eberstadt
Mikroskop, Zeiss Axio Lab.A1	Carl Zeiss Microscopy GmbH, Jena
Mikroskopkamera (CMOS), ProgRes® CT3	JENOPTIK Laser, Optik, Systeme GmbH, Jena
Mikrometer Mikroskop Kamera Kalibrierung Slide, 0,01mm	Shanghai Muhwa Ecommerce Co., Ltd., Shanghai, China
Paraffin-Streckbad, TFB 45.000	Medite Medical GmbH, Burgdorf
Rotationsmikrotom, halbautomatisch, Leica Biosystems RM2245	Leica Biosystems Nussloch GmbH, Nussloch
Trockenofen Wärmeschränke, Binder ED 53	Fa. BINDER GmbH, Tuttlingen
Schüttel-/Mischgerät, Reax 1R	Heidolph Instruments GmbH & CO. KG, Schwabach
Schüttel-/Mischgerät, Rotamax 120	Heidolph Instruments GmbH & CO. KG, Schwabach

Serologische Pipetten (diverse Volumina), Costar®	Corning Inc., Corning, USA
Staining-System, M920-Stainingtray™	Simport Scientific Inc., Quebec, Canada
Timer und Stoppuhr, TFA Dostmann 38.2010	TFA Dostmann GmbH & CO. KG, Wertheim-Reicholzheim

Tabelle 1: Laborgeräte (Hersteller ohne Landesangabe in Deutschland)

II.1.2 Tabelle der verwendeten Laborverbrauchsmaterialien

Laborverbrauchsmaterial	Hersteller
Dako Pen, REF S2002	Dako North America, Inc., Carpinteria, USA
Deckgläser, 50x56 mm, Glasdicke 0,13-0,17	R. Langenbrinck GmbH, Emmendingen
Eppendorf Safe-Lock Tubes (diverse Volumina)	Eppendorf AG, Hamburg
Microtom Blade R35	Feather Safety Razor CO., LTD., Osaka, Japan
Objektträger, SuperFrost® Plus, 51x75mm, Thermo Scientific, Menzel Gläser	Menzel GmbH & CO. KG., Braunschweig
Parafilm® M PM996	Bemis Company Inc., Neenah, USA
Precision Wipes, Kimtech Science 7552	Kimberly-Clark Worldwide, Inc., Irving, USA

Tabelle 2: Laborverbrauchsmaterial (Hersteller ohne Landesangabe in Deutschland)

II.1.3 Tabelle der verwendeten kommerziellen Reagenzien und Medien

Artikel	Hersteller
Aqua dest.	Carls Roth GmbH & CO. KG., Karlsruhe
Avidin/Biotin Blocking Kit, Vector SP-2001	Vector Laboratories Inc., Burlingame, USA

DAB Substrate Kit, Peroxidase (HRP), with Nickel, (3,3'-diaminobenzidine) SK-4100	Vector Laboratories Inc., Burlingame, USA
Dako Antibody Diluent, REF S-0809	Dako North America, Inc., Carpinteria, USA
Dako Mayer's Hematoxylin (Lillie's Modification), REF S-3309	Dako North America, Inc., Carpinteria, USA
Dako Tween 20, REF S1966	Dako North America, Inc., Carpinteria, USA
Ethanol 99%	Liquid Production GmbH, Flintsbach am Inn
Formaldehydlösung 4,5%, neutral, gepuffert	Liquid Production GmbH, Flintsbach am Inn
Hydrogen peroxide solution 30%	Sigma-Aldrich Corp., St. Louis, USA
Paraplast Plus	Leica Biosystems Richmond Inc., Richmond, USA
Polyclonal Rabbit Anti-PGP 9.5 (REF Z5116; LOT 00082213)	Dako North America, Inc., Carpinteria, USA
VectaMount® Permanent Mounting Medium, H-5000	Vector Laboratories Inc., Burlingame, USA
VECTASTAIN® Elite ABC-HRP Kit, PK-6200	Vector Laboratories Inc., Burlingame, USA
Wasserstoffperoxid 30%	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim
Xylene 98%	AppliChem GmbH, Darmstadt

Tabelle 3: Kommerzielle Reagenzien und Medien (Hersteller ohne Landesangabe in Deutschland)

II.1.4 Wasserstoffperoxid (H₂O₂) 3%

21ml 30% H₂O₂

679ml Aqua dest.

II.1.5 Tris(hydroxymethyl)aminomethan-Puffer [Tris-Puffer] (pH 7,6)

a) Tris-gepufferte-Kochsalzlösung (TBS)

(Mengenangaben gelten für 1000ml Pufferlösung)

50 mM Tris (entspr. 50 ml Stammlösung A)

150 mM NaCl (entspr. 50 ml Stammlösung B)

→ mit Aqua dest. auf 1000 ml auffüllen

Stammlösung A = Tris 0,5 molar

0,5 M Tris (entspr. 121,14 g)

→ mit 800 ml Aqua dest. lösen

*→ bei 25°C durch Zugabe von 32% HCL auf pH 7,6 (+/-0,2)
titrieren*

→ erneute pH-Kontrolle nach >12h

→ mit Aqua dest auf 1000 ml auffüllen

Stammlösung B = NaCl 3 molar

3 M NaCl (entspr. 175,32 g)

→ in Aqua dest. lösen und auf 1000 ml auffüllen

b) TBS + Tween-20 [0,1%] (TBST)

1000 ml TBS

1 ml Tween-20

II.2 Patientenkollektiv

Patient	Alter	Geschlecht	OP-Indikation	OP-Datum	Lamellen (N)	verwendete Ebenen	Auszähleinheiten (N)
1	76	männlich	Urothel-Ca	26.04.2017	7	1,2,3,4	67
2	74	männlich	Urothel-Ca	27.04.2017	3	1,2,3	26
3	77	männlich	Strahlenzystitis	03.05.2017	2	4,5	14
4	75	männlich	Urothel-Ca	08.05.2017	4	1,4,5	35
5	54	männlich	Urothel-Ca	12.05.2017	7	1,3,5	44
6	78	männlich	Urothel-Ca	16.05.2017	4	2,4	41
7	75	männlich	Urothel-Ca (Urethra)	14.04.2009	6	1,3,4,5	67
8	71	männlich	Paraplegie mit Blasenfunktionsstörung	04.02.2009	4	1,2,3,4	40
9	64	männlich	Urothel-Ca	06.07.2017	5	1,4,5	36
10	81	männlich	Urothel-Ca	20.07.2017	4	2,5	35
11	79	männlich	Urothel-Ca	21.07.2017	4	2,5	34
12	75	männlich	Urothel-Ca	15.09.2017	8	1,2,4,5	30
13	72	männlich	Urothel-Ca	18.09.2017	4	1,3,4,5	31
	$\bar{x}=73,2$				Total=62		Total=500

Tabelle 4: Charakterisierung des in dieser Arbeit untersuchten Patientenkollektivs nach Alter, Geschlecht, OP-Indikation, OP-Datum, Anzahl geonnener Lamellen, Anzahl untersuchter Ebenen, Anzahl untersuchter Auszähleinheiten

Das Patientenkollektiv setzte sich aus 13 männlichen Patienten zusammen. Die Patienten waren durchschnittlich 73,2 Jahre alt. Im Zeitraum von 2009 bis 2017 wurde bei allen Patienten eine Zystoprostektomien durchgeführt. Bei 11 von 13 stellte ein Urothelkarzinom die OP-Indikation dar. Zwei der 13 Patienten wurden aufgrund von Blasenfunktionsstörungen und damit verbundenen Komplikationen zystoprostektomiert. Insgesamt konnten 500 Auszähleinheiten aus 62 Schnitten mikroskopiert werden.

II.3 Aufarbeitung des Probenmaterials

II.3.1 Gewinnen und Fixieren des Probenmaterials

Die Präparate wurden im Rahmen von radikalen Zystoprostektomien gewonnen. Alle Patienten haben im Rahmen der „Einwilligung zur Verwendung von Biomaterial und Daten der Forschungsdatenbank und Biobank der Medizinischen Fakultät & des Universitätsklinikums Tübingen“ ihre Zustimmung zur Verwendung des in dieser Studie untersuchten Gewebes erteilt. Die Eingriffe wurden zwischen 02/2009 bis 09/2017 an der Universitätsklinik für Urologie Tübingen durchgeführt. Alle Zystoprostektomiepräparate (ZPP) wurden in Folge der Resektion nach demselben Algorithmus behandelt. Eine Fotodokumentation der einzelnen Schritte erfolgte (siehe Abbildung 2).

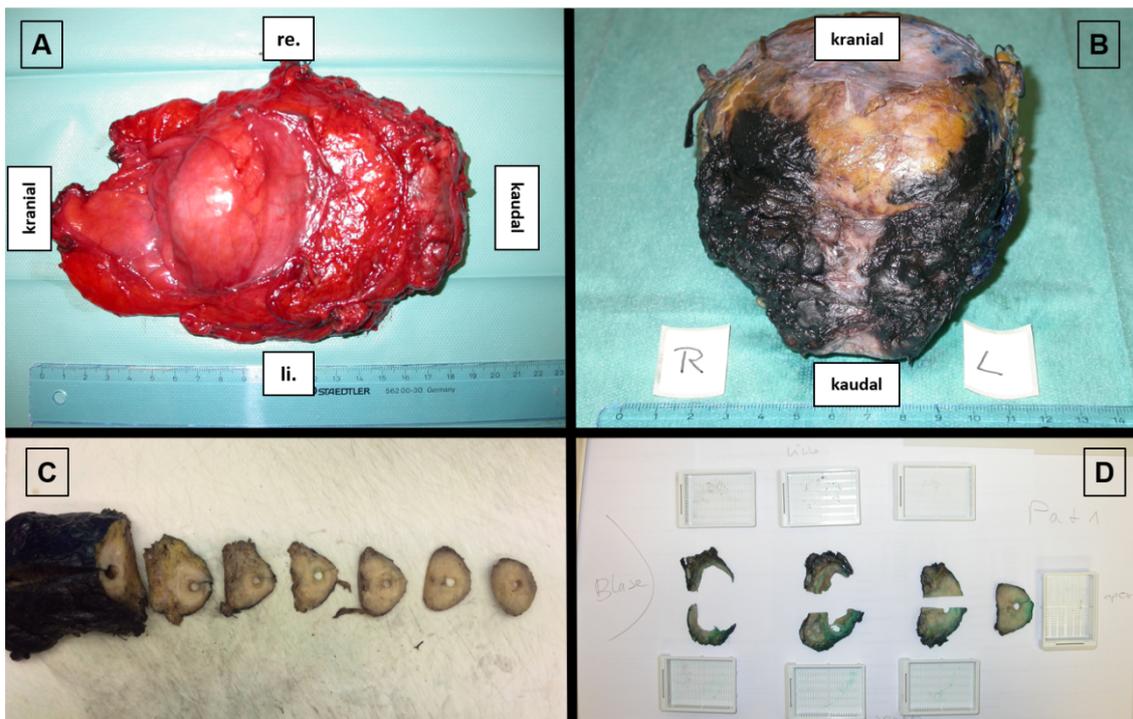


Abbildung 2: Aufarbeitungsschritte der Zystoprostektomiepräparate. A: unfixiertes Präparat von posterior; B: formaldehyd-fixiertes, sowie getuschtes Präparat von anterior-kaudal; C: zugeschnittene Organlamellen; D: Organlamellen - sofern notwendig sagittal getrennt - und zugehörige Gewebeeinbettkassetten.

Unmittelbar nach Freigabe der Präparate durch den Operateur, wurde, falls medizinisch aus onkologischen Gründen im Rahmen der üblichen Routine notwendig, eine Lamelle mit dem apikalen Absetzungsrand der Prostata vom Präparat abgetrennt. Diese apikale Absetzung wurde der pathologischen Schnellschnittdiagnostik zugeführt. Die Absetzungsänder der beiden Ureteren

wurden zuvor bereits intraoperativ der Schnellschnittdiagnostik zugeführt. Die Absetzung am Präparat wurde mittels lang abgeschnittener Ligatur markiert. Anschließend wurden die Präparate als Ganzes frei flottierend mindestens 24h in einem 4,5% Phosphat-gepuffertem Formaldehydbad fixiert (pH=7). Zusätzlich zur adventitiaseitigen / äußerlichen Formalineinwirkung wurden die ZPP transurethral mit Formalin gefüllt und mit einem Plastikstöpsel abgedichtet. So konnte eine rasche und durchdringende Fixation erreicht werden. Darüber hinaus ermöglichte diese Fixationsmethode die ZPP in einer, dem physiologischen Füllungszustand ähnelnden Morphologie zu fixieren. Hierdurch sollte die Orientierung und Übersichtlichkeit für die folgenden Analysen erleichtert werden.

Am folgenden Tag wurden die ZPP im Anschluss an die Fixierung, in Kooperation mit der Tübinger Universitätsklinik für Pathologie, makroskopisch-pathologisch aufgearbeitet und dokumentiert. Hierzu wurden die ZPP zur Orientierung und Identifikation der Resektionsränder zunächst an ihrer Außenseite mit schwarzer (rechte Seite) und blauer (linke Seite) Tusche eingefärbt (siehe Abbildung 2B). Anschließend wurden die ZPP makroskopisch beurteilt. Zur Beurteilung des Blasenlumens, wurden die ZPP ventralseitig sagittal aufgeschnitten. Der folgende Zuschnitt der Organpräparate in 3-5mm dicke zueinander parallele, sowie senkrecht zur posterioren Fläche der Harnblase orientierte Lamellen wurde mittels eines Trimmessers von Hand durchgeführt (siehe Abbildung 2C).

Jede zweite Lamelle, im für die Studie relevanten Bereich, welche nicht für die pathologische Routinediagnostik benötigt wurde, wurde dem Kollektiv dieser Studie zugeführt. Diese Lamellen durchliefen im Folgenden eine Großflächenaufarbeitung. Für die folgende Ebenfixation der Lamellen (als Ganzes oder sagittal/vertikal in rechts und links getrennt, falls diese zu groß waren) wurden extra große Gewebereinbettkassetten verwendet (siehe Abbildung 2D). Zur Sicherstellung eines ebenen Fixationsergebnisses fanden speziell für diesen Zweck angefertigte Lochplatten und Distanzelemente Verwendung (siehe Abbildung 3). Im Falle, dass Lamellen als Ganzes die verfügbare Fläche der Gewebereinbettkassetten überschritten, wurden rechte- und linke Seite (in

Einzelfällen auch zwei rechte- und zwei linke Quadranten) voneinander getrennt aufgearbeitet.

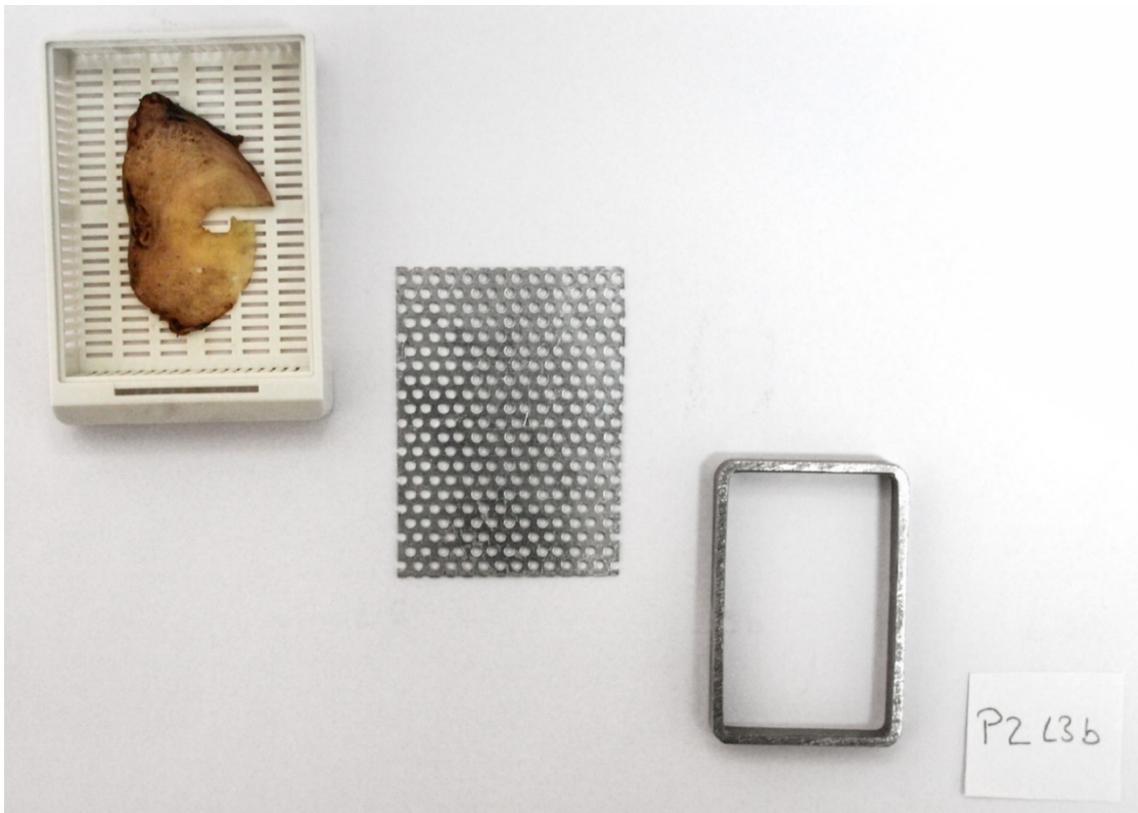


Abbildung 3: Beispiel der Ebenfixation einer Organlamellen in Gewebeeinbettkassetten mit Metallochblech und Distanzelement, sowie Präparatnummer.

Im Einbettautomaten wurde die folgende Dehydrierung und Paraffinierung der gewonnenen Organlamellen in den Gewebeeinbettkassetten durchgeführt. Das anschließende Ausgießen der Organlamellen erfolgte mit auf 60°C temperiertem flüssigem Paraffin. Zur Verwendung kamen Einbettkapseln in Sondergröße.

Sämtliche Organlamellen wurden in standardisierter Orientierung in Paraffin eingebettet, sodass die zum Prostataapex gerichtete Schnittebene sichtbar war. So wurden alle Lamellen beim Zuschnitt der Großflächenschnitte mit dem Microtom von der dem Prostataapex zugewandten Seite nach kranial hin aufgeschnitten.

II.3.2 Erstellen der Großflächenschnitte

Zum Erstellen der Großflächenschnitte wurde ein halbautomatisches Rotationsmicrotom vom Typ Leica RM2245 verwendet. Dieses ermöglichte es,

mittels geeignetem Probenhalter, die ausgegossenen Paraffinblöcke auf Super-Mega-Kassetten mit einer maximalen Paraffinlänge von 65-70mm zu schneiden. Die Paraffinblöcke wurden mit einer Schnittdicke von 20µm bis zum Erreichen der gewünschten Schnittebene getrimmt. Anschließend wurden Großflächenschnitte mit einer Schichtdicke von 5µm angefertigt und auf spezielle adhäsive / positiv-geladene Objektträger [SuperFrost Plus, 51x75mm] aufgezogen. Die resultierende elektrostatische Anziehung, sowie die folgende Ausbildung kovalenter Bindungen ermöglichen eine verstärkte Adhäsion zwischen Gewebe und Glasoberfläche. Hiermit sollte das färbebedingte Ablösen von Gewebe vom Objektträger minimiert werden (Lang, 2013, p. 165).

Die Großflächenschnitte wurden primär in mit Alkohol versetztem Wasser auf die Objektträger aufgezogen. Um ein faltenfreies und homogenes Aufliegen der Großflächenschnitte auf den Objektträgern zu erzielen, wurden diese in einem zweiten Schritt in auf 50°C temperierten reinem Wasser erneut vom Objektträger gelöst und ein weiteres Mal aufgezogen. Mittels Saugtüchern wurde verbliebenes Wasser zwischen Objektträger und Präparat entfernt, um ein planes Aufliegen auf dem Objektträger zu erreichen. Anschließend wurden die Schnitte für mindestens 48 Stunden in einem auf 37°C temperierten Wärmeschrank getrocknet.

II.4 Immunhistochemische Färbung

II.4.1 Immunhistochemische Methode

Die immunhistochemische Methode basiert auf dem Prinzip der gezielten hochaffinen Bindung von Antikörpern mit, auf der Zielstruktur befindlichen, spezifischen Epitopen oder auch Antigen determinanten (Aminosäure-Clustern) (Berg et al., 2018). Durch eine solche hochaffine Antikörper-Antigen-Reaktion am Ort des Epitops, können mithilfe eines Detektionssystems, definierte Antigene detektiert / sichtbar gemacht werden. Um eine möglichst zweifelsfreie Detektion einer gewünschten Zielstruktur zu ermöglichen, sollten die an der Antikörper-Bindung beteiligten Epitope spezifisch für diese sein. So ist es möglich, das Vorkommen bestimmter Gewebe / Zellen, welche durch ein spezifisches Antigen charakterisiert sind, gezielt nachzuweisen. Ferner sollten die verwendeten

Antikörper spezifisch an das gewünschte Epitop binden, ohne auch für strukturell ähnliche Epitope eine hohe Affinität aufzuweisen. Ein solches Phänomen, ebenso wie eine unspezifische, nicht Antikörper-Antigen-vermittelte Bindung an Gewebestrukturen, wird als Kreuzreaktivität bezeichnet. Die Erreichbarkeit und Stabilität des Epitops über den gesamten Prozess der Gewebeaufbereitung und Färbung sicherzustellen, eine Dissoziation der Antikörper-Antigen-Bindung während des Färbeprozesses mittels hochaffiner Antikörper zu verhindern, die optimalen Reaktionsbedingungen zu definieren, sowie unspezifische Bindungen und Kreuzreaktionen zu verhindern, stellen zentrale Herausforderungen dieser Methode dar. Ferner ist zu beachten, dass die Spezifität der Antigen-Antikörper-Bindung auch von der verwendeten Fixationsmethode abhängen kann (Lang, 2013).

II.4.2 Färbeprotokoll PGP 9.5

Um das Paraffin zu verflüssigen, wurden die Präparate vor Beginn der Färbung mindestens 40 Minuten bei 60°C im Wärmeschrank inkubiert. Anschließend wurden die Schnitte dreimal zehn Minuten im Xylolbad unter dem Abzug entparaffiniert. Es folgte die Rehydrierung mittels Durchlaufens einer absteigend konzentrierten Alkoholreihe. Hierzu wurden die Schnitte zweimal sieben Minuten in 100% Ethanolbädern, anschließend zweimal sieben Minuten in 96% Ethanolbädern und final einmal sieben Minuten in einem 70% Ethanolbad behandelt.

Im nächsten Schritt wurden ubiquitär im Gewebe vorkommende endogene Peroxidasen blockiert. Dies diente der Minimierung falsch-positiver Färberesultate, durch unspezifische oxidative Umsetzung des verwendeten Chromogens Diaminobenzidintetrahydrochlorid (DAB). Hierzu wurden die Präparate 30 Minuten bei Raumtemperatur in 3% Wasserstoffperoxid inkubiert. Zellen mit einem hohen Anteil an endogenen Peroxidasen sind zum Beispiel Erythrozyten, Muskelzellen, Granulozyten, Monozyten, sowie Nieren- und Lebergewebe. Der Nachweis ungefärbter Erythrozyten kann daher als Erfolgskontrolle des Peroxidaseblocks herangezogen werden (Lang, 2013,

p. 296). Im Folgenden wurden die Präparate zweimal fünf Minuten in TBST-Pufferlösung gewaschen.

Da in dieser Studie die Avidin-Biotin-Komplex-Methode angewandt wurde, erfolgte anschließend die Blockierung endogenen Biotins, endogener Biotinrezeptoren, sowie endogener Avidinbindungsstellen, um eine unspezifische Hintergrundfärbung zu verhindern. Jeweils 15 Minuten wurden die Präparate hierzu, erst mit Avidin D Solution, und nach zweimal fünfminütigem Waschen in TBST mit Biotin-Solution bei Raumtemperatur inkubiert (Avidin/Biotin Blocking Kit, SP-2001). Abermals wurden die Präparate daraufhin zweimal fünf Minuten in TBST gewaschen.

Zur Reduktion unspezifischer Hintergrundfärbung, verursacht durch hydrophobe oder elektrostatische Wechselwirkungen mit dem Primärantikörper, erfolgte eine 30-minütige Inkubation bei Raumtemperatur mit Dako Antibody Diluent S0809. Ohne zwischengeschalteten Waschschrift, wurde anschließend, nach Abkippen der Dako Diluent Lösung, der PGP 9.5 Primärantikörper aufgebracht. Je Präparat wurden 1ml 1:1000 mit Dako Antibody Diluent S0809 verdünnter PGP 9.5 Primärantikörper zugegeben. Anschließend erfolgte für >19h die Inkubation in einer feuchten Kammer bei 4°C. Zusätzlich wurde jeweils eine Negativprobe, welche ausschließlich mit 1ml Dako Antibody Diluent S0809 ohne Zugabe des Primärantikörpers inkubiert wurde, pro Färbeansatz angefertigt. Nach erfolgter Inkubation der Präparate mit dem Primärantikörper wurden diese zweimal fünf Minuten in TBST gewaschen. Im Anschluss wurden die Präparate mit dem biotinyliertem Sekundärantikörper (biotinylated horse anti-mouse/rabbit IgG) in einer 1:200 Verdünnung mit Dako Antibody Diluent S0809 bei Raumtemperatur inkubiert.

Nach zweimaligem fünfminütigem Waschen in TBST erfolgte die Inkubation bei Raumtemperatur mit jeweils 1ml Avidin-Biotin-Enzym-Komplex entsprechend Herstellervorgabe. Der Avidin-Biotin-Enzym-Komplex wurde 30 Minuten vor Anwendung aus 1000 Einheiten TBS und je 20 Einheiten Reagenz A (Avidin, ABC Elite) und Reagenz B (Biotinylated Horseradish Peroxidase, ABC Elite)

hergestellt. Hierzu wurde das Vectastain Elite ABC HRP Kit verwendet (Vectastain Elite ABC HRP Kit, PK-6200).

Vor Aufbringen des Chromogens wurden die Präparate ein weiteres Mal zweimal fünf Minuten in TBST gewaschen. Als Chromogen wurde DAB aus dem DAB (3.3'-diaminobenzidine) Peroxidase-Substrate-Kit (Vector Laboratories Inc.) verwendet. Dieses wurde kurz vor der Anwendung aus 1000 Einheiten destilliertem Wasser, sowie 40 Einheiten DAB und jeweils 20 Einheiten des im Kit enthaltenen Puffers, sowie Wasserstoffperoxid hergestellt. Die Inkubationszeit betrug bei Raumtemperatur exakt drei Minuten. Das DAB dient somit als Reduktionsmittel der Katalyse des Wasserstoffperoxids durch die bereits aufgebrauchte biotinylierte Peroxidase. Hierbei wird das DAB selbst oxidiert und in das gewünschte braune Farbsubstrat umgesetzt. (Oliver and Jamur, 2010, p. 262). Dieses ist in organischen Lösungsmitteln wie Alkohol und Xylol unlöslich (Lang, 2013, p. 316). Nach Inkubation mit dem Chromogen wurde ein zweimal zehnmütiger Waschschrift in destilliertem Wasser durchgeführt. Daraufhin erfolgte eine 45 Sekunden lange Gegenfärbung in Meyers Hämatoxylin (Dako Mayer's Hematoxylin (Lillie's Modification)). Anschließend wurden die Präparate 7 Minuten unter stetigem Leitungswasserzufluss geblät. Im Folgenden fand die Dehydrierung der Präparate in einer aufsteigenden Alkoholreihe und zuletzt in Xylol statt. Hierzu wurden die Präparate zweimal je drei Minuten in 96% Ethanol, anschließend zweimal je 5 Minuten in 100% Ethanol und abschließend dreimal je fünf Minuten unter dem Abzug in Xylol behandelt. Abschließend erfolgte das Eindecken der Objektträgerpräparate mit Einschlussmittel (VectaMount, Mounting Medium) und Deckgläsern.

II.5 Auswertung

II.5.1 Mikroskopische Auswertung

Es erfolgte die quantitative mikroskopische Auswertung von oberflächlich gelegenem, extramuralen/extrakapsulären Nervengewebe der ZPP im definierten Studienbereich. Mikroskopiert wurde mit einem Zeiss Axio Mikroskop in 100-, 200- und 400-facher Vergrößerung. Ausgezählt wurden, durch PGP 9.5 zinnoberrot angefärbte Nervenstrukturen mit typischer Nervengewebe-

morphologie und einem Querdurchmesser von größer drei Axonen. Ferner wurden Nervenstrukturen größer und kleiner 200µm getrennt voneinander dokumentiert. Die Differenzierung der Nervengrößen erfolgte mittels kalibrierter Mikroskopkamera [ProgRes® CT3]. Mit dieser erfolgte ferner eine ausführliche Fotodokumentation der mikroskopischen Prostata- und Blasenperipherie (siehe Abbildung 4 und Abbildung 5).

Die Auszählung erfolgte isoliert für jede definierte Auszähleinheit (siehe II.5.2). Neben der beschriebenen quantitativen und größendifferenzierten Auswertung der Nervenstrukturen wurden zusätzlich das Vorkommen von Samenblasengewebe und der Anteil von Gewebe bedeckter Fläche pro Auswertesegment in 25% Abstufungen $\geq 75%$ (100%, 75%) analysiert und dokumentiert.

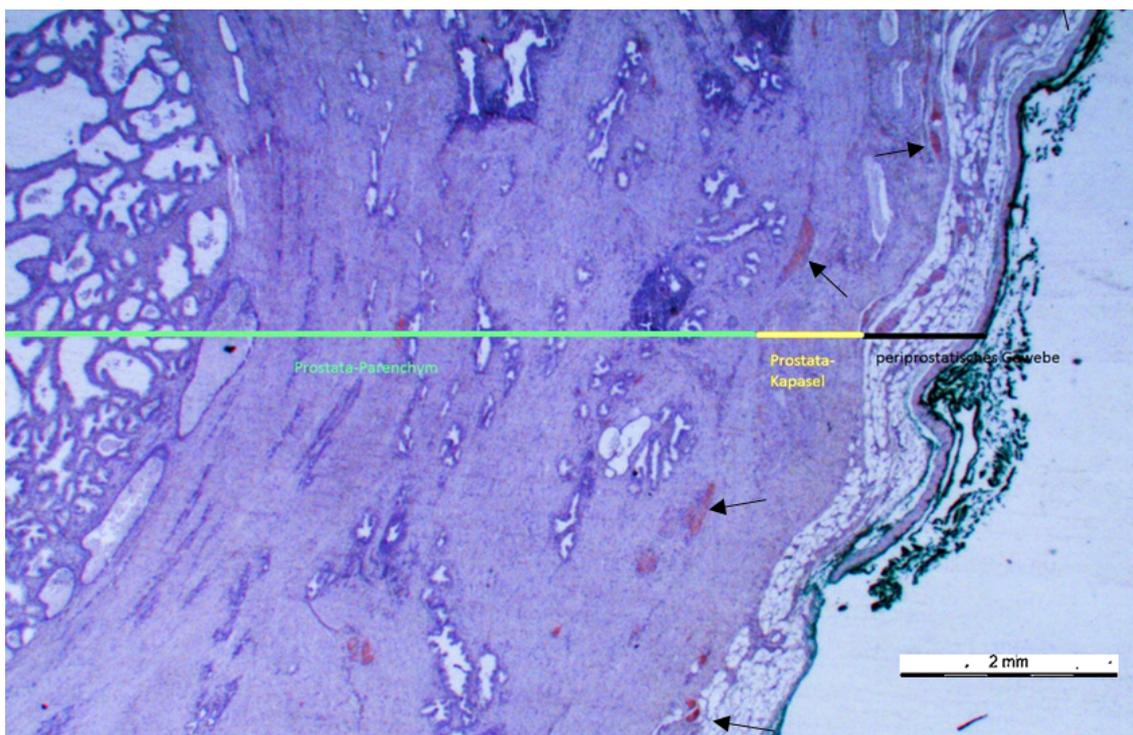


Abbildung 4: Immunhistochemische Histologie des HPÜ: Nervenfärbung mit PGP 9.5 (zinnoberrot). Grün=Prostataparenchym, gelb=Prostatakapsel, c=periprostatices Gewebe, Pfeil=PGP 9.5 gefärbte Nerven. 12,5x Vergrößerung (Maßstab: 2mm). Ebene 1, anterolateral, Schale A

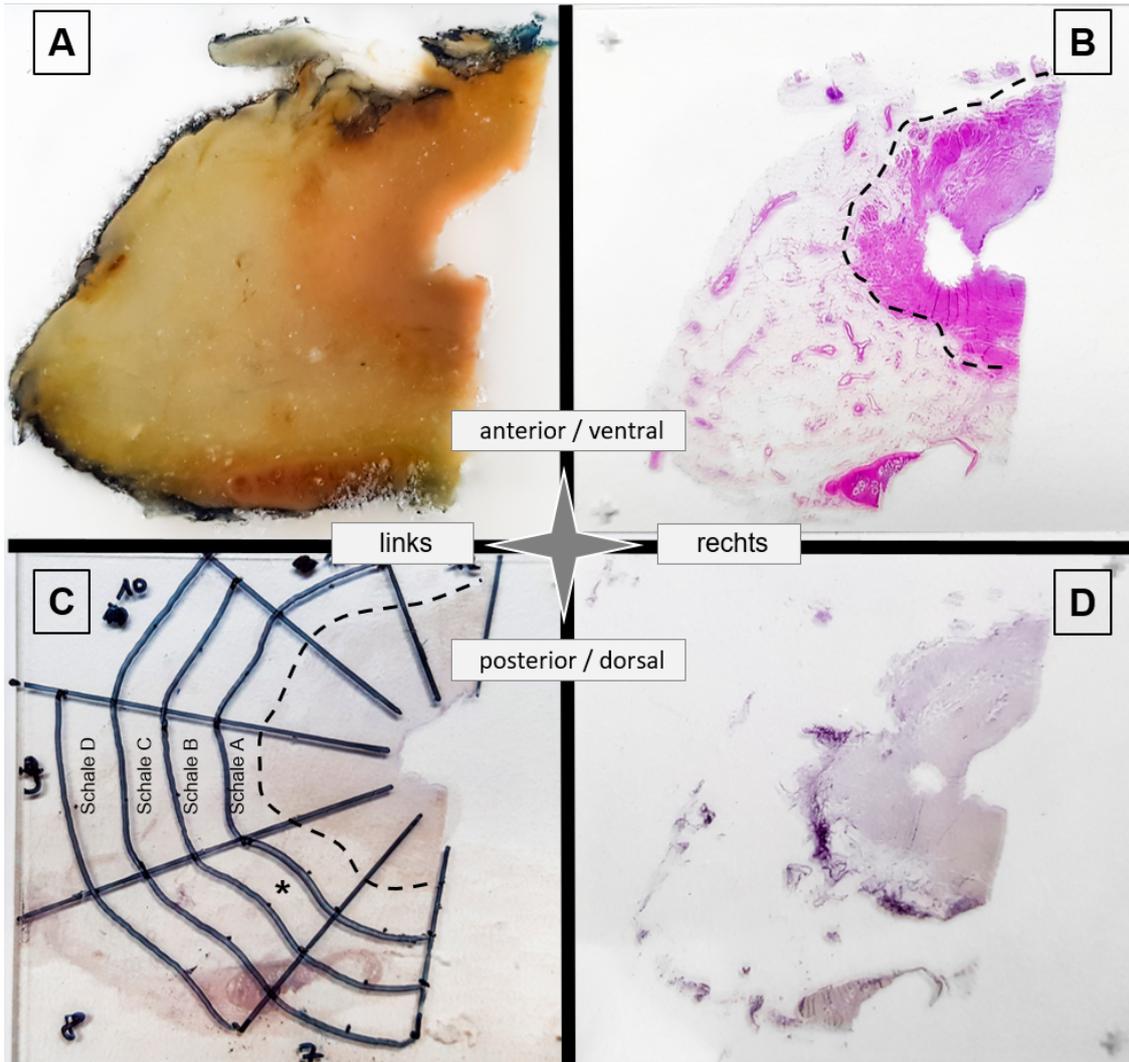


Abbildung 5: Übersichtsdarstellung eines exemplarischen Großflächenschnittes der Harnblase auf Höhe Ebene 4 zu unterschiedlichen Bearbeitungszeitpunkten. A: Paraffinblock; B: HE-Färbung (gestrichelte Linie = idealisierte laterale Abgrenzung der Tunica muscularis); C: PGP 9.5-Färbung miteingezeichnetem Auswertungsraster (* exemplarische Auszähleinheit, gestrichelte Linie = idealisierte laterale Abgrenzung der Tunica muscularis); D: PGP 9.5-Färbung mit erheblichen Gewebeschäden entstanden im Rahmen des immunhistochemischen Färbeprozesses (nicht auswertbar)

II.5.2 Definition des Auszählbereichs

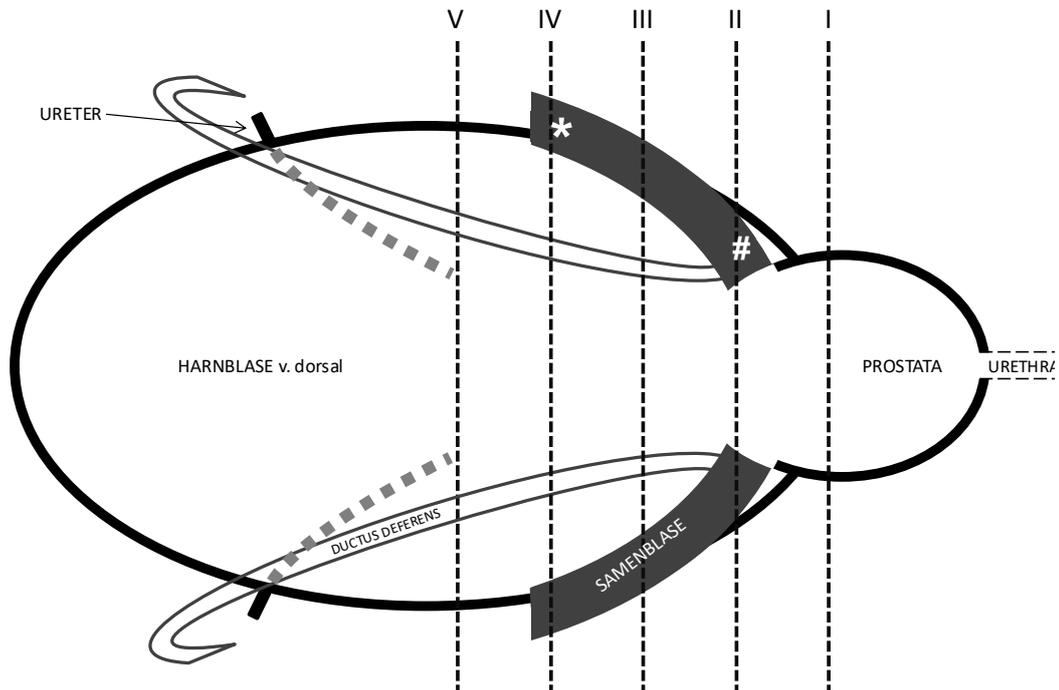


Abbildung 6: Schematische Darstellung eines Zystatoprostatektomiepräparats, von dorsal mit den 5 definierten Ebenen. Ebene 1 = HPÜ; Ebenen 2 = kaudales Ende Samenblasen (#Samenblasenbasis); Ebene 3 = Mitte Samenblasen; Ebene 4 = kraniales Ende Samenblasen (* Samenblasenspitze); Ebene 5 = 1cm kranial d. Samenblasen.

Ebenen entlang der Sagittalachse

Die beschriebene mikroskopische Auswertung erfolgte an Querschnitten der ZPP auf fünf verschiedenen Ebenen entlang der Sagittalachse. In kaudal-kranialer Richtung wurden folgende Ebenen definiert: Ebene 1 = HPÜ; Ebene 2 = kaudales Ende der Samenblasen (Samenblasenbasis), Ebene 3 = mittig der Samenblasen, Ebene 4 = kraniales Ende der Samenblasen (Samenblasenspitze), Ebene 5 = 1cm kranial der Samenblasen (siehe Abbildung 6 und Abbildung 7). Die Zuteilung der Blasenlamellen zu den definierten Ebenen erfolgte durch makroskopische Beurteilung des ZPP.

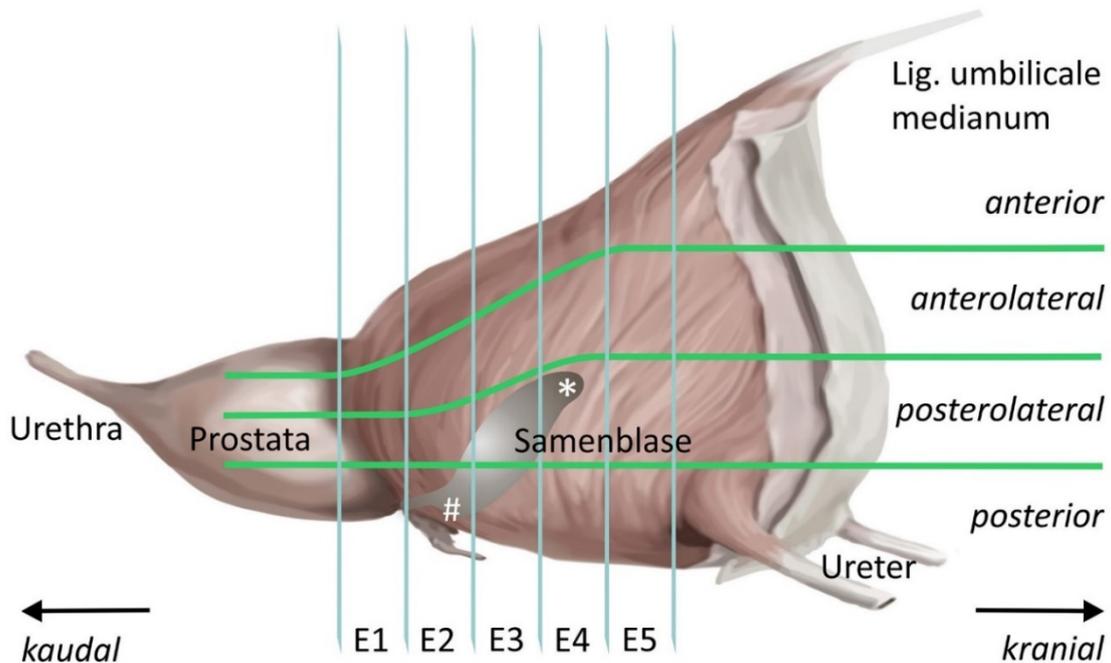


Abbildung 7: Schematische Darstellung eines Zystatoprostatektomiepräparats von lateral mit den 5 definierten Ebenen. Ebene 1 = HPÜ; Ebenen 2 = kaudales Ende Samenblasen; Ebene 3 = Mitte Samenblasen; Ebene 4 = kraniales Ende Samenblasen; Ebene 5 = 1cm kranial Samenblasen, * Samenblasenspitze, #Samenblasenbasis

Aufteilung in Radiärsegmente und Ringe

Jedes Präparat wurde zirkulär in Radiärsegmente und in konzentrisch angeordnete Ringe eingeteilt. Ein Radiärsegment wurde mit einem Winkel von 30° ausgehend vom topografischen Mittelpunkt des Präparates definiert. Somit wurde ein vollständiger Querschnitt in 12 Radiärsegmente mit einem Winkel von je 30° unterteilt. Im Falle eines in rechte und linke Seite getrennt aufbereiteten Querschnitts konnten bis zu sechs Segmente pro Präparat definiert werden. Die Vertikale markierte hierbei die Aufteilung des Präparates in rechte und linke Seite. Die Horizontale legte die Unterteilung in anteriore und posteriore Seite bzw. anterioren und posterioren Teil des Querschnitts fest. Die numerische Zuordnung erfolgte im Uhrzeigersinn. Radiärsegment 1 wurde als das erste Radiärsegment links der Vertikalen definiert. Die konzentrische Aufteilung in Ringe erfolgte ausgehend von einer inneren, dem Präparatmittelpunkt zugewandten, anatomischen Grenze. Diese stellte bei Präparaten mit Prostatagewebe die äußere Begrenzung der Prostatakapsel dar (siehe Abbildung 4). Bei Präparaten mit Blasengewebe wurde die äußere Begrenzung der Tunica muscularis als innere Grenze definiert (siehe Abbildung 5 B und C).

Ausgehend von dieser inneren Begrenzung wurden vier, jeweils 5mm breite konzentrisch angeordnete Ringe definiert: Ring 1 = 0-5mm; Ring 2 = 5-10mm; Ring 3 = 10-15mm; Ring 4 = 15-20mm.

Bei den Prostatapräparaten wurde somit das extrakapsuläre, periprostatiche, bis maximal 20mm von der äußeren Kapselgrenze entfernte Nervengewebe ausgezählt. Im Falle von Blasenpräparaten wurde das extramurale perivesikale Nervengewebe bis maximal 20mm von der äußeren Begrenzung der Tunica muscularis ausgehend ausgezählt. Insgesamt wurden somit für jede Ebene (entspricht vollständigem Blasenquerschnitt) $12 \times 4 = 48$ Auszähleinheiten definiert.

Die Auszähleinheiten wurden mithilfe eines schwarzen Permanentfilzstiftes auf den Objektträgern visualisiert. Die Linienführung erfolgte idealisiert an jeweils drei mit Lineal abgemessenen Punkten für jedes Radiärsegment und jeden Ring gesondert (siehe Abbildung 5C). Die Filzstiftlinien waren unter mikroskopischer Betrachtung ausreichend transparent, sodass die darunterliegenden Bereiche mit ausgewertet werden konnten.

Mindestanteil an gewebebedeckter Fläche und Ausschlusskriterien für einzelne Auszähleinheiten

In die Auswertung eingeschlossen wurden nur Auszähleinheiten, deren Fläche zu mindestens 75% von Gewebe bedeckt waren. Der Anteil an gewebebedeckter Fläche der einzelnen Auszähleinheiten wurde in 25% Abstufungen (100%, 75%) dokumentiert. Ausgenommen hiervon war der innerste Ring (Ring 1). Sofern sich bei einem Präparat Radiärsegmente zeigten, welche in Ring 1 weniger als 50% mit Gewebe bedeckter Fläche und kein Gewebe in den Ringen 2-4 aufwiesen, wurden diese Auszähleinheiten in die Auswertung miteinbezogen. In diesem Fall wurde in der Studie von der natürlichen Organ-/Präparatgrenze ausgegangen und somit ein artifizielles Fehlen von Gewebe für unwahrscheinlich befunden. Zeigten sich jedoch Hinweise auf einen relevanten, der immunhistochemischen Färbung geschuldeten oder zuschnittbedingten Gewebedefekt, wurden diese

Auszähleinheiten mit weniger als 50% gewebebedeckter Fläche in Ring 1 nicht ausgewertet.

Hochrechnung von Auszähleinheiten auf 100% gewebebedeckte Fläche

Die erfasste Nervenanzahl in Auszähleinheiten, welche nur 75% gewebebedeckte Fläche aufwies, wurden mit dem Faktor 4/3 auf eine bei 100% Gewebebedeckung zu erwartende Nervenanzahl hochgerechnet. In der vorliegenden Studie betraf dies 65 von 500 (13%) erfassten Auszähleinheiten.

II.5.3 Dokumentation

Dokumentation der mikroskopischen Auszählung

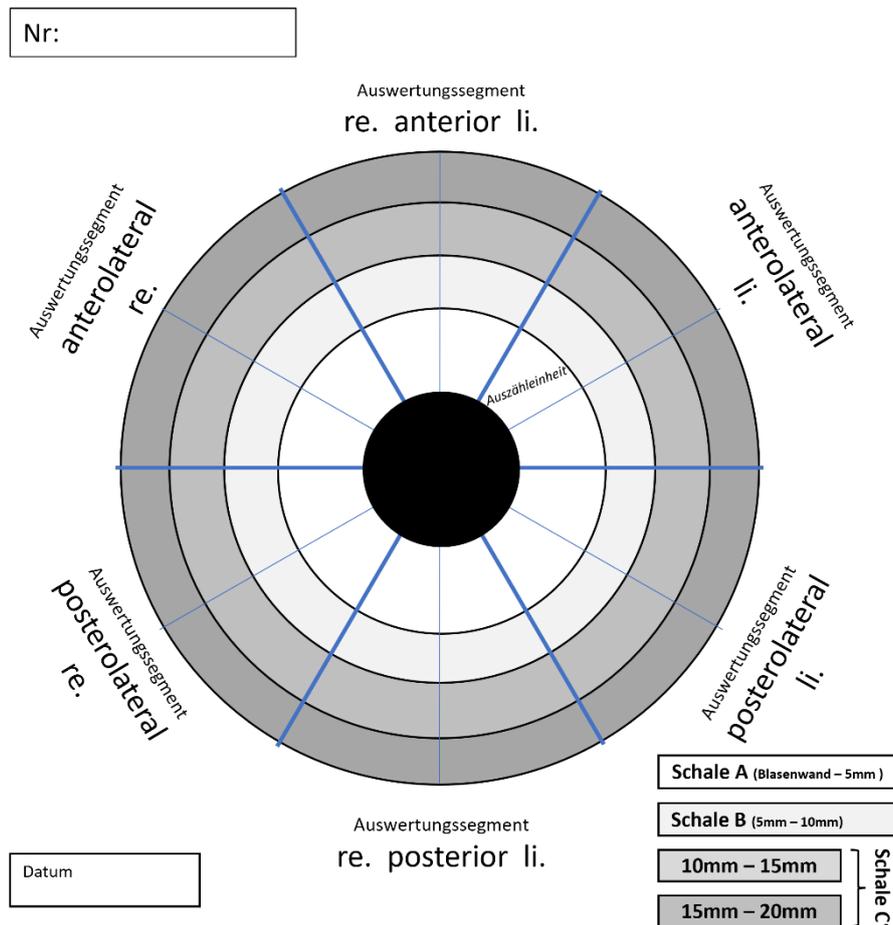


Abbildung 8: Darstellung des verwendeten Auswertungsbogen im Sinne eines schematischen Querschnitts mit Unterteilung in Radiärsegmente und Ringe.

Zur lückenlosen Dokumentation der mikroskopischen Auswertung der Präparate wurde ein Auswertungsbogen erstellt. Dieser veranschaulichte in idealisierter und schematischer Form das Auswertungsprinzip nach Ebenen, Radiärsegmenten und Ringen.

Die untersuchten Auswertungsvariablen (Nervengewebe, differenziert in <200 µm und >200 µm; das Vorkommen von Samenblasengewebe (Ja / Nein) und der Anteil von Gewebe bedeckter Fläche pro Auswertesegment [100%, 75%]) konnten so einzeln und übersichtlich zugeordnet zur jeweiligen Ebene, Radiärsegment und Ring dokumentiert werden (siehe Abbildung 8).

Datenbank

Sämtliche zuvor aufgelisteten Variablen, sowie die untersuchte Ebene wurden in einer Datenbank der Statistiksoftware SPSS® (Version 26) der Firma IBM® (Armonk, USA) nummerisch und gesondert für jede Auszähleinheit eingepflegt.

II.5.4 Definition des Auswertungsbereichs und der Mindeststichprobengröße

Auswertungseinheit (Ebenen, Auswertungssegmente, Schalen)

Die unter II.5.2 definierten 48 Auszähleinheiten pro Querschnitt wurden zum Zwecke einer sinnvollen Auswertbarkeit zu Auswertungseinheiten gruppiert. Die Gesamtheit der erhobenen Beobachtungen (Auszähleinheiten) je Auswertungseinheit bildete somit die Datengrundlage für weiterführende Berechnungen. So konnte eine möglichst hohe Detailauflösung der Nervenhäufigkeiten bei gleichzeitig ausreichend großer Stichprobengröße je Auswertungseinheit erzielt werden. Hierzu wurden die 12 Radiärsegmente, analog für rechte und linke Seite, zu vier 4 anatomischen Auswertungssegmenten gruppiert. Die Gruppierung erfolgte gemäß ihrer anatomischen Beziehung: Radiärsegment 1 und 12 = Auswertungssegment anterior; Radiärsegmente 2-3 und 10-11 = Auswertungssegment anterolateral; Radiärsegmente 4-5 und 8-9 = Auswertungssegment posterolateral; Radiärsegmente 6-7 = Auswertungssegment posterior. Ferner wurden die Ringe 3 (10-15mm) und 4 (15-20mm) zu einem gemeinsamen Ring (10-20mm)

zusammengefügt. Hintergrund war, dass Ring 3 ($MW_N=5,4$) und noch betonter Ring 4 ($MW_N=2,8$) im Vergleich zu Ring 1 ($MW_N=15,5$) und Ring 2 ($MW_N=8,2$) durchschnittlich deutlich weniger Beobachtungen je Auswertungseinheit (N) aufwiesen. Durch die Fusion der Ringe 3 und 4 zu einem gemeinsamen Ring konnte die durchschnittliche Anzahl an Beobachtungen je Auswertungssegment und Ebene auf $MW_N=7,5$ angehoben werden. Im Sinne einer klaren Nomenklatur wird im Folgenden von drei Schalen gesprochen. Schale A = Ring 1 (0-5mm), Schale B = Ring 2 (5-10mm) und Schale C' = Ring 3+4 (10-20mm).

Auswertungseinheiten in der fusionierten Schale C' wurden folglich auch von jeweils der doppelten möglichen Anzahl an Auszähleinheiten repräsentiert als Auswertungseinheiten in den Schalen A und B. Anterior und posterior wurden in Schale C' von jeweils 4 Auszähleinheiten (statt 2 in Schale A und B), sowie anterolateral und posterolateral von jeweils 8 möglichen Auszähleinheiten (statt 4 in Schale A und B) repräsentiert. So konnte die Belastbarkeit statistischer Aussagen ausreichend erhöht werden. Im Gegenzug musste ein Verlust an Detailauflösung in Kauf genommen werden. Folglich wurden die 48 Auszähleinheiten zu je 4 Auswertungseinheiten je Schale und Ebene gruppiert – in Summe 12. Bei 5 definierten Ebenen ergaben sich also 60 mögliche Auswertungseinheiten pro Harnblase als detailreichste Auflösung für die weiteren Untersuchungen.

Mindeststichprobengröße

Ebenfalls zur Sicherstellung ausreichend belastbarer statistischer Aussagen, wurde eine Mindeststichprobengröße von $N \geq 4$ Auszähleinheiten je Auswertungseinheit festgelegt.

II.6 Statistische Aufarbeitung der Daten

II.6.1 Nervenhäufigkeiten („Nervendichte“)

Zum Vergleich der Nervenhäufigkeit wurden Mittelwerte der erfassten Nervenanzahl je Auszähleinheit berechnet.

$$\text{Nervendichte} = \frac{\text{Nervenanzahl}}{\text{Auszähleinheit}}$$

So konnte die durchschnittliche Nervendichte je Auszähleinheit für jede Auswertungseinheit bestimmt werden. Einschränkend sei erwähnt, dass die Bezugseinheit Auszähleinheit nicht auf ein definiertes metrisches Flächenmaß normiert wurde. Von einer gewissen Variation der Fläche je Auszähleinheit muss daher ausgegangen werden.

Sämtliche Berechnungen erfolgten gesondert für Nerven $\geq 200\mu\text{m}$. Durch Aggregation der Daten nach den Breakvariablen Ebene, Auswertungssegment und Schale wurden die unter II.5.4 definierten Auswertungseinheiten repräsentiert. Diese Aggregationsstufe entspricht der höchsten Detailauflösung in dieser Arbeit. Es konnten also, detailliert für jede Auswertungseinheit (Kombination aus Ebene, Auswertungssegment und Schale) eine verallgemeinerbare durchschnittliche Nervendichte je Auszähleinheit bestimmt werden.

Sämtliche Mittelwerte und Nervendichten größerer Betrachtungen, wie etwa bei Aggregation nach nur einer oder zwei der drei genannten Breakvariablen, entsprechen einem Durchschnittswert der Mittelwerten der höchst aufgelösten Aggregationsstufe.

Folglich stellen alle errechneten Mittelwerte, wenn nicht anders gekennzeichnet, verallgemeinerbare Aussagen hinsichtlich der Nervenanzahl je Auszähleinheit (Nervendichte) auf Datenbasis der Gesamtheit aller mikroskopierten Auszähleinheiten einer Auswertungseinheit dar.

Alle Auszählergebnisse wurden entsprechend der Stichprobengröße der entsprechenden Auswertungseinheit gewichtet. Ausgehend von dieser Fallgewichtung konnte die Stichprobenvarianz σ^2 für sämtliche in der Arbeit

verwendeten Mittelwerte korrekt bestimmt werden. Die Berechnung der Stichprobenvarianz erfolgte nach dem Verschiebungssatz der Varianz.

$$\sigma^2 = \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n x_i^2 + \bar{x}^2$$

Zur Bewertung der Präzision der geschätzten Mittelwerte wurden stets der zugehörige Standardfehler des Mittelwerts (SEM), sowie das 90% Konfidenzintervall (90%-KI) bestimmt. Der SEM errechnet sich als Quotient aus Standardabweichung (Wurzel der Varianz) der Daten (SD) und Wurzel der Stichprobengröße (N) für die jeweilige Auswertungseinheit.

$$SEM = \frac{SD}{\sqrt{N}}$$

II.6.2 Verteilungsanalyse

Um Verteilung und Streuung der erhobenen Daten zu beurteilen, wurden zusätzlich zum Mittelwert mit zugehöriger Standardabweichung der Variationskoeffizient, Minima und Maxima, die Spannweite, sowie die Perzentilen 25, 50 (Median) und 75 bestimmt.

II.6.3 Korrelationsanalyse

Korrelationen wurden in dieser Studie ausschließlich zwischen metrisch- und nominalskalierten Variablen ermittelt. Daher wurde als Zusammenhangsmaß der Eta-Koeffizient η und Eta-Quadrat η^2 berechnet. Eta-Quadrat η^2 dient als Effektstärkemaß. Eta-Quadrat beschreibt also, welcher Anteil der Variation durch die nominalskalierten Variable erklärt werden kann (Adams and Conway, 2014).

II.6.4 Hypothesentests

Hypothesentests zur Beurteilung statistisch signifikanter Unterschiede zwischen Gruppen, wurden erst ab Stichprobengrößen von $N \geq 100$ durchgeführt. Als Testverfahren für den Vergleich zweier unabhängiger Stichproben wurde stets der Welch-Test angewendet. Dieser gilt als robuster parametrischer Hypothesentest. Auf eine vorausgehende Prüfung der Stichprobe auf

Normalverteilung und Varianzhomogenität konnte daher verzichtet werden. Bei den in dieser Studie untersuchten Stichprobengrößen von $N > 30$ ist der Welch-Test auch dem Mann-Whitney-U-Test, als Rangsummentest überlegen (Kubinger et al., 2009; Rasch et al., 2011; Ruxton, 2006).

II.7 Software

Die statistische Aufarbeitung und Berechnung erfolgte mit der Statistiksoftware SPSS® (Version 26). Die graphischen Abbildungen der Daten wurden mit Microsoft Excel® Microsoft (Redmond, USA) und SPSS® (Version 26), IBM® (Armonk, USA) angefertigt.

II.8 Ethikvotum

Die Durchführung der vorgelegten Studie wurde am 24.08.2017 durch schriftliche Mitteilung der Ethik-Kommission der Medizinischen Fakultät Tübingen unter der Projekt-Nummer 520/2017B02 als bedenkenlos eingestuft und genehmigt.

III. Ergebnisse

III.1 Datengrundlage

Insgesamt wurden in 62 immunhistochemisch gefärbten Präparaten von 13 Probanden 500 Auszähleinheiten mikroskopisch untersucht und dokumentiert. Dabei war es nicht möglich von allen untersuchten ZPP jeweils alle für die Studie relevanten Ebenen zu erheben. In die Studie konnten jeweils nur die Teile der ZPP eingeschlossen werden, welche nicht Teil der pathologischen Routinediagnostik waren.

Unter Berücksichtigung der Mindeststichprobengröße $N \geq 4$ je Auswertungseinheit konnten, wie in Tabelle 5 beschrieben, von den 500 mikroskopierten Auszähleinheiten 485 für die weitere statistische Auswertung berücksichtigt werden. 310 der 485 Auszähleinheiten waren Schale A (MW=15,5 [je eingeschlossener Auswertungseinheit]), 108 Schale B (MW=12 [je eingeschlossener Auswertungseinheit]) und 67 Schale C' (MW=11,2 [je eingeschlossener Auswertungseinheit]) zugeordnet - davon 40 im Ring 10-15mm, sowie 20 im Ring 15-20mm. Mittels der 485 mikroskopierten Auszähleinheiten ließen sich 35 von 60 möglichen Auswertungseinheiten charakterisieren. Davon 20 in Schale A, 9 in Schale B und 6 in Schale C'.

ERGEBNISSE

		Ebene	Ebene	Ebene	Ebene	Ebene	Total
		1	2	3	4	5	
		N	N	N	N	N	N
Schale A 0-5mm	anterior	9	7	5	11	10	42
	anterolateral	21	17	9	23	20	90
	posterolateral	25	25	18	25	29	122
	posterior	11	12	9	12	12	56
	Total	66	61	41	71	71	310
Schale B 5-10mm	anterior				1		
	anterolateral		1	8	15	12	35
	posterolateral	1	14	16	16	16	62
	posterior		7	3	4	1	11
	Total		21	24	35	28	108
Schale C' 10-20mm	anterior				1		
	anterolateral			3	5	8	13
	posterolateral		4	16	23	11	54
	posterior		3		1		
	Total		4	16	28	19	67
Total 0-20mm	anterior	9	7	5	11	10	42
	anterolateral	21	17	17	43	40	138
	posterolateral	25	43	50	64	56	238
	posterior	11	19	9	16	12	67
	Total	66	86	81	134	118	485

Tabelle 5: Stichprobengröße je Auswertungseinheit. Rot hinterlegte Felder wurden aufgrund zu geringer Stichprobengröße nicht in der Auswertung berücksichtigt.

III.2 Nervendarstellung und Färbeergebnis

In Folge der Avidin-Biotin-Komplex Methode wurde Nervengewebe, als Resultat der Oxidation von DAB, kräftig zinnoberrot angefärbt.

Entgegen Prostatagewebe, welches sich auf den Objektträgern überwiegend stark adhärent zeigte, erwies sich die Adhäsion des verarbeiteten Blasen- und anhängenden Fettgewebes im Verlauf der immunhistochemischen Färbung als problematisch. Final waren 62 von 145 (43%) immunhistochemisch gefärbten Präparaten mikroskopisch auswertbar. Trotz der speziell verwendeten positiv geladenen Objektträger waren bei den anderen 81 von 145 (57%) gefärbten Präparaten erhebliche Gewebeschäden nach der immunhistochemischen Färbung entstanden (siehe Abbildung 5D). Eine vollständige oder teilweise mikroskopische Auswertung dieser Präparate war daher nicht möglich.

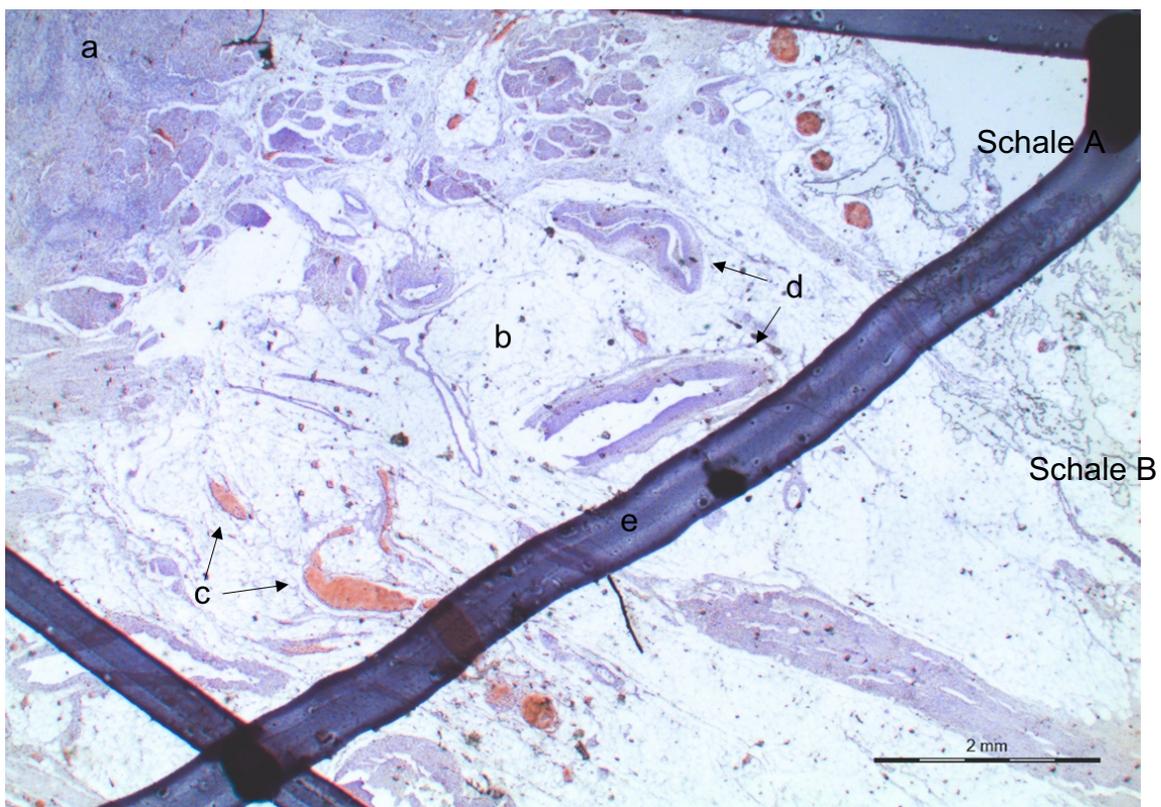


Abbildung 9: Immunhistochemische Histologie der Tunica muscularis der Harnblase mit perivesikalem Fettgewebe: Nervenfärbung mit PGP 9.5 (zinnoberrot). a=Tunica muscularis, b=perivesikales Fettgewebe, c=PGP 9.5 angefärbte Nerven, d=Blutgefäß, e=Filzstiftraster. 12,5x Vergrößerung (Maßstab: 2mm). Ebene 3, posterolateral.

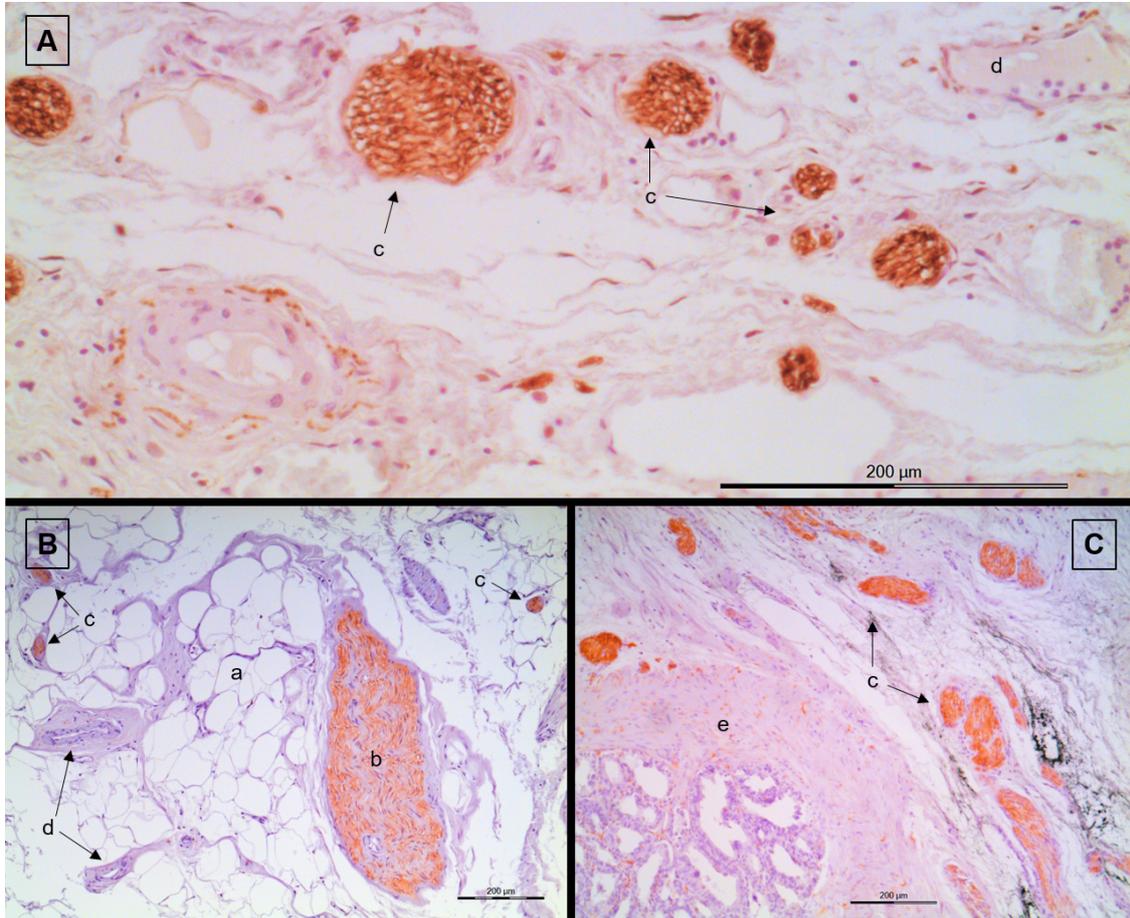


Abbildung 10: Übersichtsdarstellung immunhistochemischer Histologien paravesikaler Nerven: Nervenfärbung mit PGP 9.5 (zinnberrot). a=perivesikales Fettgewebe, b=Nerven >200µm, c=Nerven <200µm, d=Blutgefäße, e=Samenblase. A: Vergrößerung 200x (Maßstab 200µm); B: Vergrößerung 100x (Maßstab 200µm); C: Vergrößerung 100x (Maßstab 200µm)

III.3 Mittelwertvergleich von absoluten Nervenhäufigkeiten

<u>Nerven <200µm</u>		Ebene 1		Ebene 2		Ebene 3		Ebene 4		Ebene 5		Total	
		MW <200µm	SEM										
Schale A 0-5mm	anterior	14,44	3,42	9,86	3,04	8,60	3,46	14,91	3,78	17,90	2,75	13,14	1,51
	anterolateral	24,16	2,77	44,06	7,10	36,15	5,27	32,77	3,14	41,77	4,57	35,78	2,14
	posterolateral	45,45	4,71	104,93	7,87	61,56	6,44	40,27	3,03	45,34	3,50	59,51	3,18
	posterior	14,82	3,71	97,33	15,38	53,33	10,90	34,33	5,62	31,31	3,94	46,22	5,47
	Total	24,72	2,44	64,05	6,79	39,91	4,72	30,57	2,14	34,08	2,26	38,66	1,91
Schale B 5-10mm	anterior												
	anterolateral					29,21	8,23	29,93	4,68	25,39	5,69	28,18	3,36
	posterolateral			79,55	9,65	63,19	8,94	53,54	10,22	23,88	5,02	55,04	4,96
	posterior			91,90	20,54			33,25	8,59			62,58	14,95
Total			85,73	9,77	46,20	7,00	38,91	4,87	24,63	3,69	47,76	3,73	
Schale C' 0-20mm	anterior												
	anterolateral							44,40	11,89	23,75	6,99	34,08	6,83
	posterolateral			81,75	14,06	74,06	10,41	65,78	7,88	40,36	12,43	65,49	5,36
	posterior												
Total			81,75	14,06	74,06	10,41	55,09	6,32	32,06	7,50	55,02	4,64	
Total 0-20mm	anterior	14,44	3,42	9,86	3,04	8,60	3,46	14,91	3,78	17,90	2,75	13,14	1,51
	anterolateral	24,16	2,77	44,06	7,10	32,68	4,74	35,70	3,09	30,30	3,32	33,16	1,80
	posterolateral	45,45	4,71	88,74	5,41	66,27	4,96	53,20	4,29	36,53	3,91	59,97	2,45
	posterior	14,82	3,71	94,62	11,96	53,33	10,90	33,79	4,35	31,31	3,94	50,90	5,32
	Total	24,72	2,44	72,77	5,22	46,59	3,87	38,80	2,36	31,21	2,15	43,81	1,65

Tabelle 6: Durchschnittliche absolute Anzahl PGP 9.5 gefärbter Nerven <200µm pro Auszähleinheit (Nervendichte) und zugehöriger Standardfehler des Mittelwertes differenziert nach Ebenen, Auswertungssegmenten und Schalen. Farbliche Visualisierung der Nervendichte von Dunkelrot = geringe Nervendichte bis Dunkelgrün = hohe Nervendichte. SEM = Standardfehler des Mittelwerts.

ERGEBNISSE

Nerven >200µm		Ebene 1		Ebene 2		Ebene 3		Ebene 4		Ebene 5		Total	
		MW >200µm	SEM	MW >200µm	SEM								
Schale A <i>0-5mm</i>	<i>anterior</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,18	0,12	0,00	0,00	0,04	0,03
	<i>anterolateral</i>	0,24	0,10	0,65	0,36	0,00	0,00	0,58	0,21	0,05	0,05	0,30	0,09
	<i>posterolateral</i>	1,05	0,36	1,88	0,48	0,61	0,24	0,45	0,15	0,14	0,08	0,83	0,14
	<i>posterior</i>	0,00	0,00	0,08	0,08	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,02	0,02
	<i>Total</i>	0,32	0,12	0,65	0,20	0,15	0,09	0,30	0,08	0,05	0,03	0,30	0,05
Schale B <i>5-10mm</i>	<i>anterior</i>												
	<i>anterolateral</i>					0,38	0,18	0,47	0,17	0,28	0,15	0,37	0,09
	<i>posterolateral</i>			1,17	0,54	0,75	0,23	0,44	0,20	0,06	0,06	0,60	0,16
	<i>posterior</i>			0,00	0,00			0,00	0,00			0,00	0,00
<i>Total</i>			0,58	0,33	0,56	0,16	0,30	0,11	0,17	0,08	0,39	0,09	
Schale C' <i>10-20mm</i>	<i>anterior</i>												
	<i>anterolateral</i>							0,40	0,24	0,42	0,28	0,41	0,18
	<i>posterolateral</i>			1,75	1,11	0,98	0,35	0,65	0,23	0,45	0,31	0,96	0,20
	<i>posterior</i>												
<i>Total</i>			1,75	1,11	0,98	0,35	0,53	0,16	0,44	0,21	0,78	0,16	
Total <i>0-20mm</i>	<i>anterior</i>	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,18	0,12	0,00	0,00	0,04	0,03
	<i>anterolateral</i>	0,24	0,10	0,65	0,36	0,19	0,10	0,48	0,11	0,25	0,09	0,35	0,06
	<i>posterolateral</i>	1,05	0,36	1,60	0,33	0,78	0,16	0,51	0,11	0,22	0,09	0,80	0,09
	<i>posterior</i>	0,00	0,00	0,04	0,05	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01	0,01
	<i>Total</i>	0,32	0,12	0,79	0,18	0,39	0,09	0,35	0,06	0,17	0,05	0,40	0,05

Tabelle 7: Durchschnittliche absolute Anzahl PGP 9.5 gefärbter Nerven >200µm pro Auszähleinheit (Nervendichte) und zugehöriger Standardfehler des Mittelwertes je Auswertungseinheit differenziert nach Ebenen, Auswertungssegmenten und Schalen. Farbliche Visualisierung der Nervendichte von Dunkelrot = geringe Nervendichte bis Dunkelgrün = hohe Nervendichte. SEM = Standardfehler des Mittelwertes.

III.3.1 Vergleich zwischen Ebenen

Nerven <200µm

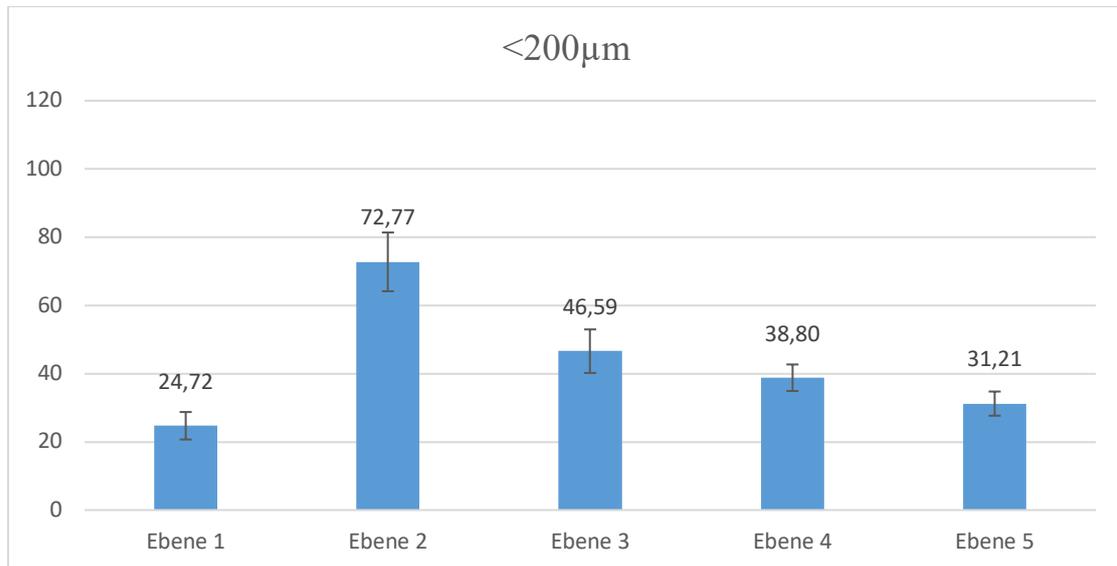


Abbildung 11: Darstellung der durchschnittlichen Anzahl PGP 9.5 gefärbter Nerven <200µm pro Auswertungseinheit (Nervendichte) differenziert nach Ebenen. Die Fehlerindikatoren entsprechen dem 90%-Konfidenzintervall.

Die durchschnittliche absolute Nervendichte je Auszähleinheit von PGP 9.5 gefärbten Nerven <200µm für die Ebenen 1-5 sind in Tabelle 6 und Abbildung 11 dargestellt. Neben dem errechneten Mittelwert wird jeweils nachstehend in Klammern der Standardfehler des Mittelwerts genannt.

Im Mittel wurde in Ebene 2 die höchste Nervendichte erfasst. Mit 72,77 Nerven <200µm (5,22) und ausbleibender Überlappung der Konfidenzintervalle konnte von einer systematischen Beobachtung ausgegangen werden. In Ebene 1 wurden mit 24,72 (2,44) Nerven die geringste Nervendichte gezählt. Die Betrachtung der Konfidenzbänder ließ auch hier den Schluss eines systematischen Zusammenhangs zu. Von Ebene 2 zu Ebene 5 zeigte sich ein kontinuierlicher Abfall der Nervendichte. In Ebene 3 wurden im Durchschnitt 46,59 (3,87) Nerven je Auszähleinheit gegenüber 38,80 (2,36) Nerven in Ebene 4 und 31,21 (2,15) Nerven in Ebene 5 gezählt. Bei sich lediglich zwischen Ebene 3 und Ebene 4 marginal überschneidenden Konfidenzbändern konnte auch diese Dynamik als systematisch angesehen werden.

Zusammenfassend zeigte sich somit, dass in Ebene 2 systematisch die größte und in Ebene 1 die systematisch geringste durchschnittliche Nervendichte erfasst wurde. Von Ebene 2 bis 5 zeigte sich ein systematischer kontinuierlicher Abfall der durchschnittlichen Nervenhäufigkeiten.

Nerven >200µm

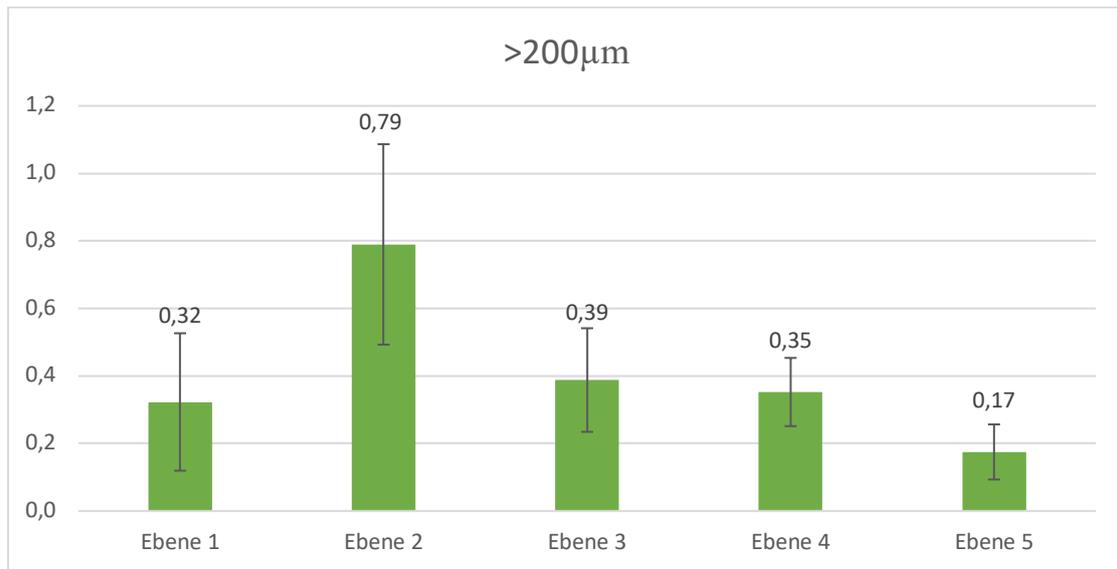


Abbildung 12: Darstellung der durchschnittlichen Anzahl PGP 9.5 gefärbter Nerven >200µm pro Auswertungseinheit (Nervendichte) differenziert nach Ebenen. Die Fehlerindikatoren entsprechen dem 90%-Konfidenzintervall.

Die durchschnittliche absolute Nervendichte je Auszähleinheit von PGP 9.5 gefärbten Nerven >200µm für die Ebenen 1-5 sind in Tabelle 7 und Abbildung 12 dargestellt. Neben dem errechneten Mittelwert wird jeweils nachstehend in Klammern der Standardfehler des Mittelwerts genannt.

Analog zu den Beobachtungen für Nerven <200µm zeigte sich auch für die Nerven >200µm in Ebene 2 die systematisch höchste Nervendichte je Auszähleinheit. Hier befanden sich im Durchschnitt 0,79 (0,18) Nerven. Bei einer nur geringfügigen Überlappung des Konfidenzintervalls von Ebene 2 mit denen der Ebenen 1 und 3 konnte dieser Unterschied als systematisch aufgefasst werden.

Mit 0,17 (0,05) Nerven wurde in Ebene 5 im Durchschnitt die geringste Nervendichte gezählt. Gegenüber den Ebenen 3 und 4 zeigte sich bei Betrachtung der Konfidenzintervalle ein systematischer Unterschied. Zwischen

Ebene 5 und 1 zeigte sich hingegen eine nahezu vollständige Überlappung der Konfidenzintervalle. Eine systematisch niedrigere Nervendichte in Ebene 5 gegenüber Ebene 1 konnte mit den vorliegenden Daten somit nicht sicher gezeigt werden.

Bei sich weitestgehend überlappenden Konfidenzintervallen, fanden sich in Ebene 1 durchschnittlich 0,32 (0,12) Nerven >200µm, in Ebene 3 0,39 (0,09) und in Ebene 4 0,35 (0,06). Auf Basis dieser Daten konnte somit kein systematischer Unterschied zwischen den Ebenen 1,3 und 4 nachgewiesen werden.

III.3.2 Vergleich zwischen Auswertungssegmenten

Nerven >200µm

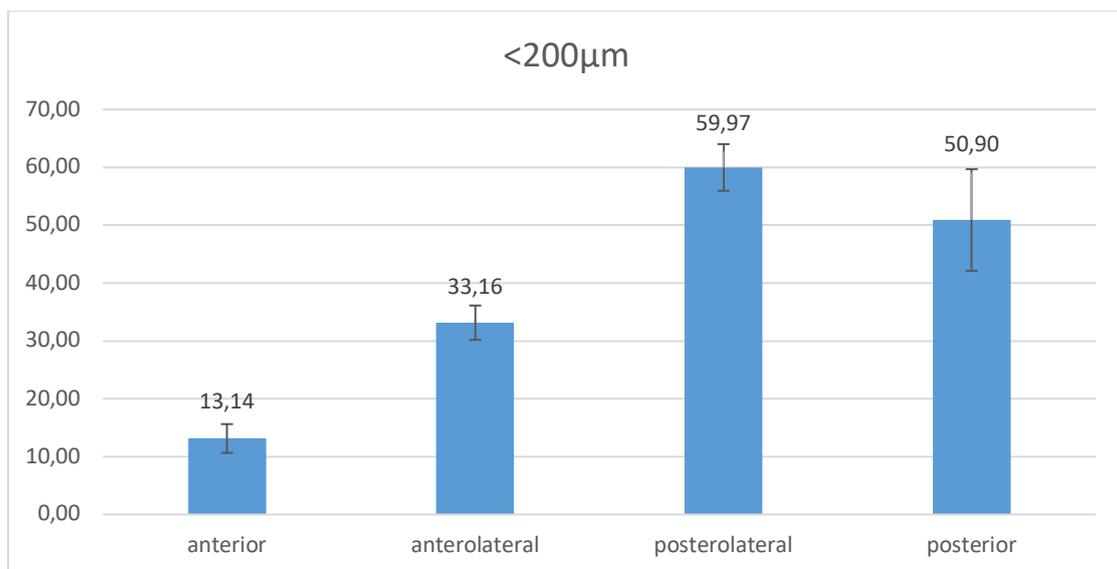


Abbildung 13: Darstellung der durchschnittlichen Anzahl PGP 9.5 gefärbter Nerven <200µm pro Auswertungseinheit (Nervendichte) differenziert nach Auswertungssegmenten. Die Fehlerindikatoren entsprechen dem 90%-Konfidenzintervall.

Die durchschnittliche absolute Nervendichte je Auszähleinheit von PGP 9.5 gefärbten Nerven <200µm für die Auswertungssegmente anterior, anterolateral, posterolateral und posterior sind in Tabelle 6 und Abbildung 13 dargestellt. Neben dem errechneten Mittelwert wird jeweils nachstehend in Klammern der Standardfehler des Mittelwerts genannt.

Durchschnittlich wurden posterolateral die meisten Nerven $<200\mu\text{m}$ je Auszähleinheit gezählt. Im Durchschnitt befanden sich dort 59,97 (2,45) Nerven. Gegenüber dem anterioren und anterolateralen Auswertungssegment war diese Beobachtung im höchsten Maße systematisch. Im Vergleich zum posterioren Auswertungssegment überschritten sich die Konfidenzintervalle deutlich. Hinsichtlich eines tatsächlich systematischen Unterschieds der Nervendichte zwischen posterolateralem und posteriorem Auswertungssegment muss also von einer erheblichen statistischen Fehlerwahrscheinlichkeit ausgegangen werden.

Mit durchschnittlich 13,14 (1,51) gezählten Nerven $<200\mu\text{m}$ anterior gegenüber 33,16 (1,80) Nerven anterolateral und 50,90 (5,32) Nerven posterior und sich eindeutig nicht überschneidenden Konfidenzintervallen konnten diese Unterschiede als systematisch angesehen werden.

Zusammenfassend zeigte sich eine systematisch deutlich höhere Nervendichte der Nerven $<200\mu\text{m}$ in den posterioren Auswertungssegmenten (posterolateral und posterior) gegenüber den anterioren Auswertungssegmenten (anterolateral und anterior).

Nerven $>200\mu\text{m}$

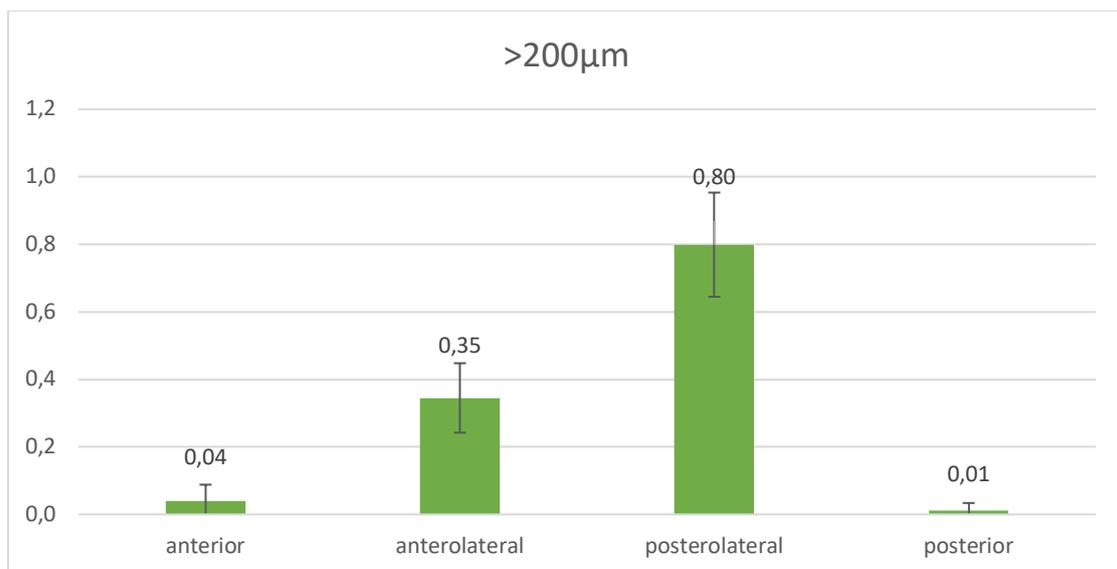


Abbildung 14: Darstellung der durchschnittlichen Anzahl PGP 9.5 gefärbter Nerven $>200\mu\text{m}$ pro Auswertungseinheit (Nervendichte) differenziert nach Auswertungssegmenten. Die Fehlerindikatoren entsprechen dem 90%-Konfidenzintervall.

Die durchschnittliche absolute Nervendichte je Auszähleinheit von PGP 9.5 gefärbten Nerven $>200\ \mu\text{m}$ für die Auswertungssegmente anterior, anterolateral, posterolateral und posterior sind in Tabelle 7 und Abbildung 14 dargestellt. Neben dem errechneten Mittelwert wird jeweils nachstehend in Klammern der Standardfehler des Mittelwerts genannt.

Anterior und posterior wurden durchschnittlich 0,04 (0,05) und 0,01 (0,02) Nerven $>200\ \mu\text{m}$ je Auszähleinheit gezählt. Bei Betrachtung der Konfidenzintervalle erschien ein systematisches Vorkommen von Nerven $>200\ \mu\text{m}$ in diesen Auswertungssegmenten eher unwahrscheinlich.

Der überwältigende Teil an Nerven $>200\ \mu\text{m}$ war also in den lateralen Auswertungssegmenten verortet. Posterolateral wurde mit durchschnittlich 0,80 (0,09) gezählten Nerven $>200\ \mu\text{m}$ pro Auszähleinheit eine systematisch höhere Nervendichte als anterolateral mit 0,35 (0,06) gezählten Nerven erfasst.

Zusammenfassend zeigte sich eine im anterioren und posterioren Auswertungssegment nicht von 0 signifikant verschiedene Nervendichte der Nerven $>200\ \mu\text{m}$. Im posterolateralen Auswertungssegment war deren Nervendichte mehr als doppelt so hoch, als im anterolateralen Auswertungssegment.

III.3.3 Kombiniertes Vergleich von Ebenen und Auswertungssegmenten über alle Schalen (0-20mm)

Nerven <200µm

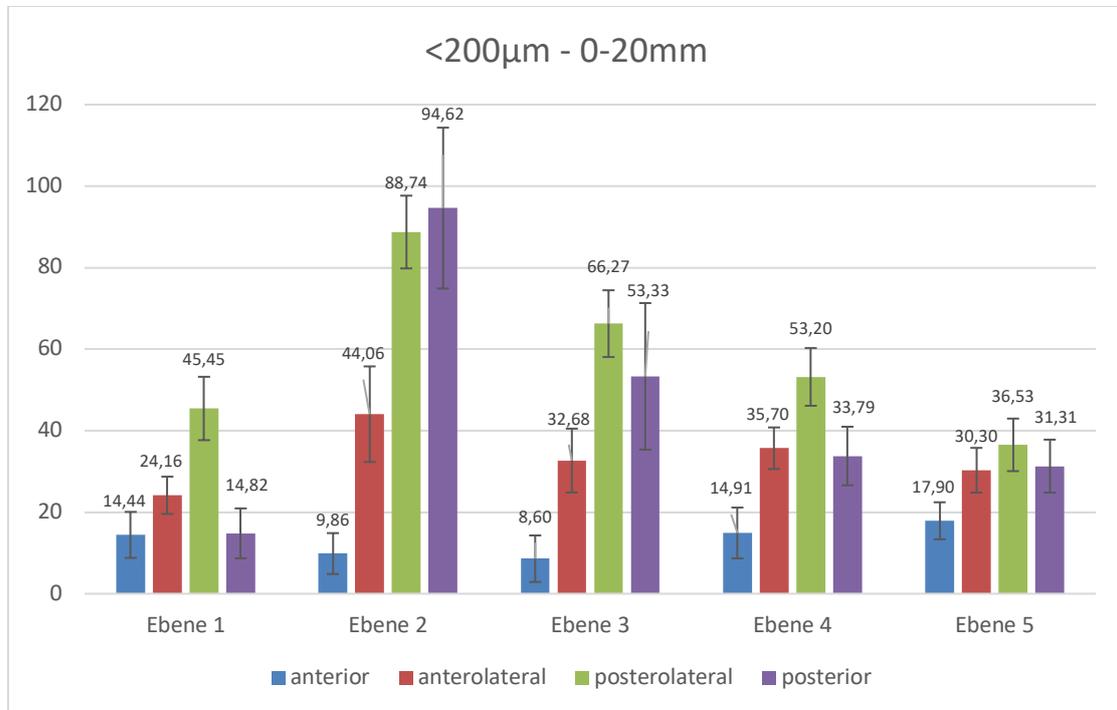


Abbildung 15: Darstellung der durchschnittlichen Anzahl PGP 9.5 gefärbter Nerven <200µm pro Auswertungseinheit (Nervendichte) differenziert nach Ebenen und Auswertungssegmenten. Die Fehlerindikatoren entsprechen dem 90%-Konfidenzintervall.

Die durchschnittliche absolute Nervendichte je Auszähleinheit von PGP 9.5 gefärbten Nerven <200µm differenziert nach Ebenen und Auswertungssegmenten sind in Tabelle 6 und Abbildung 15 dargestellt. Neben dem errechneten Mittelwert wird jeweils nachstehend in Klammern der Standardfehler des Mittelwerts genannt.

In Ebene 1 wurde posterolateral die höchste Nervendichte der Nerven <200µm mit im Durchschnitt 45,45 (4,71) Nerven je Auszähleinheit erfasst. In den übrigen drei Auswertungssegmenten in Ebene 1 befanden sich systematisch weniger Nerven <200µm. Anterior und posterior wurden mit durchschnittlich 14,44 (3,42) und 14,82 (3,71) Nerven <200µm die geringsten Nervendichten in Ebene 1 erfasst. Anterolateral wurden 24,16 (2,77) Nerven <200µm je Auszähleinheit gezählt. Dies war eine systematisch höhere Nervendichte als anterior und posterior.

In Ebene 2 wurden posterolateral und posterior systematisch die absolut höchsten Nervendichten verglichen mit sämtlichen anderen Auswertungseinheiten aller Ebenen ermittelt. Mit 88,74 (5,41) und 94,62 (11,96) erfassten Nerven <200µm posterolateral und posterior konnte von keinem statistisch signifikanten Unterschied ausgegangen werden. Von posterolateral nach anterior nahm die erfasste Nervendichte kontinuierlich und systematisch ab. Anterolateral wurden durchschnittlich 44,06 (7,10) und anterior 9,86 (3,04) Nerven <200µm je Auszähleinheit ermittelt.

In Ebene 3 zeigte sich ein mit Ebene 2 vergleichbares Verteilungsmuster. Die beiden posterioren Auswertungssegmente wiesen systematisch höhere Nervendichten auf als die beiden anterioren Auswertungssegmente. Posterolateral wurden 66,27 (4,96) und posterior 53,33 (10,90) Nerven <200µm gezählt. Systematische Unterschiede untereinander zeigten sich nicht. Insgesamt war die absolute Nervendichte in den beiden posterioren Auswertungssegmenten systematisch geringer als in Ebene 2, jedoch höher als in den übrigen Ebenen 1, 4 und 5. In den anterioren Auswertungssegmenten zeigte sich kein systematischer Unterschied zu den analogen Bereichen in Ebene 2 und 4.

In Ebene 4 befanden sich posterolateral mit durchschnittlich 53,20 (4,29) gezählten Nerven <200µm je Auszähleinheit systematisch mehr Nerven als in den anderen drei Auswertungssegmenten dieser Ebene. Mit 14,91 (3,78) Nerven <200µm war anterior die systematisch geringste Nervendichte erfasst worden. Posterior und anterolateral wurden mit 33,79 (4,35) und 35,70 (3,78) nahezu identisch viele Nerven <200µm je Auszähleinheit erfasst.

In Ebene 5 zeigte sich bezüglich der Nervendichte lediglich ein systematischer Unterschied zwischen dem anterioren Auswertungssegment und den drei weiter posterior gelegenen. Anterior wurden 17,90 (2,75) Nerven <200µm gezählt. Anterolateral, posterolateral und posterior wurden mit 30,30 (3,32), 36,53 (3,91) und 31,31 (3,94) gezählten Nerven <200µm weitestgehend vergleichbare Nervendichten erfasst.

Zusammenfassend zeigten sich systematisch die niedrigste Nervendichte der Nerven <200µm im anterioren Auswertungssegment. Lediglich in Ebene 1 wurden posterior gleichermaßen wenige Nerven <200µm erfasst wie anterior. Ferner war innerhalb der beiden anterioren Auswertungssegmenten eine verhältnismäßig homogene Verteilung der Nervendichte entlang der fünf Ebenen zu erkennen. Demgegenüber zeigte sich bei den beiden posterioren Auswertungssegmenten ein eingipfliger Verlauf der Nervendichte entlang der Ebenen 1-5 mit systematischem Maximum in Ebene 2.

Nerven >200µm

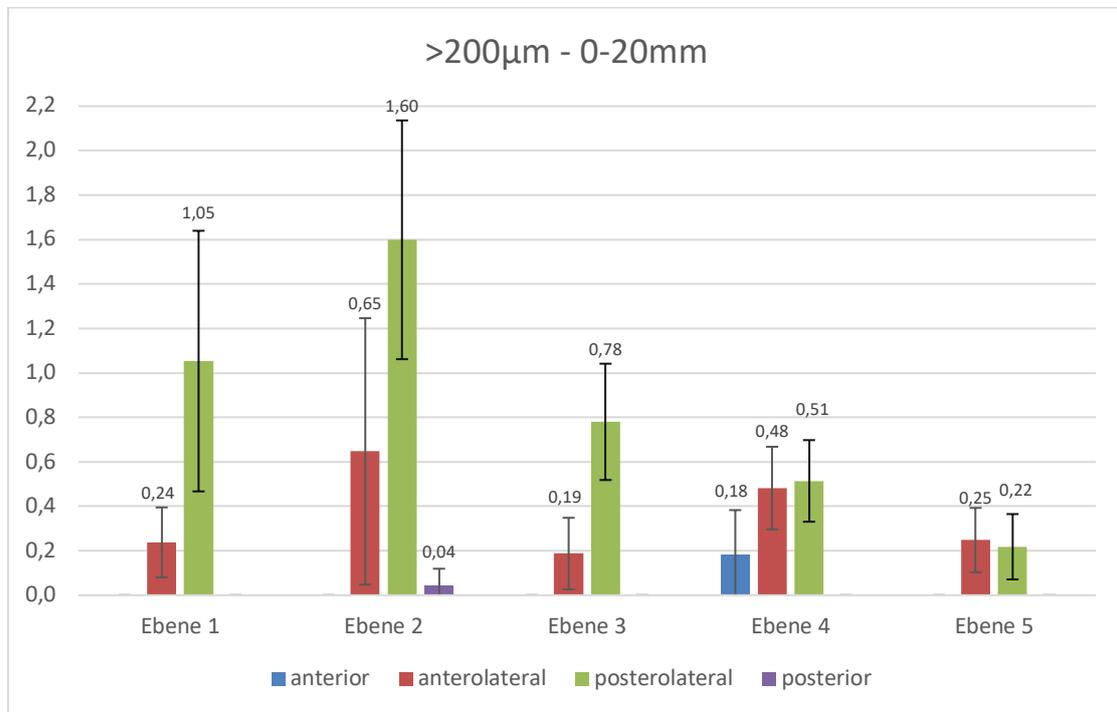


Abbildung 16: Darstellung der durchschnittlichen Anzahl PGP 9.5 gefärbter Nerven >200µm je Auszähleinheit (Nervendichte) differenziert nach Ebenen und Auswertungssegmenten. Die Fehlerindikatoren entsprechen dem 90%-Konfidenzintervall.

Die durchschnittliche absolute Nervendichte je Auszähleinheit von PGP 9.5 gefärbten Nerven >200µm differenziert nach Ebenen und Auswertungssegmenten sind in Tabelle 7 und Abbildung 16 dargestellt. Neben dem errechneten Mittelwert wird jeweils nachstehend in Klammern der Standardfehler des Mittelwerts genannt.

In allen Ebenen wurden in den lateralen Auswertungssegmenten (anterolateral und posterolateral) Nerven >200µm erfasst. Posterior wurden lediglich in Ebene

2 zusätzlich durchschnittlich 0,04 (0,05) Nerven >200µm je Auszähleinheit gezählt. Anterior wurden ausschließlich in Ebene 4 0,18 (0,12) Nerven >200µm gezählt.

Durchschnittlich 0,24 (0,10) Nerven >200µm je Auszähleinheit wurden in Ebene 1 anterolateral und 1,05 (0,36) Nerven >200µm posterolateral erfasst. In Ebene 2 wurden anterolateral 0,65 (0,36) und posterolateral 1,60 (0,33) Nerven >200µm erfasst. In Ebene 3 fanden sich anterolateral 0,19 (0,10) und posterolateral 0,78 (0,16) Nerven >200µm. Mit durchschnittlich 0,48 (0,11) anterolateral und 0,51 (0,11) Nerven >200µm posterolateral zeigten sich in den lateralen Auswertungssegmenten in Ebene 4 nahezu identische Nervendichten. Das gleiche wurde auch in Ebene 5 festgestellt. Hier befanden sich anterolateral 0,25 (0,09) und posterolateral 0,22 (0,09) Nerven >200µm je Auszähleinheit.

Zusammenfassend zeigte sich, dass in den Ebenen 1-3 posterolateral systematisch die höchsten Nervendichten der Nerven >200µm erfasst wurden. In den Ebenen 4 und 5 war hingegen kein systematischer Unterschied zwischen dem anterolateralen und posterolateralen Auswertungssegment ersichtlich. Anterior und posterior befanden sich nahezu keine Nerven >200µm. Ferner zeigte sich, analog zu den Beobachtungen für Nerven <200µm, ein systematisches Gefälle der Nervendichte der Nerven >200µm in den posterolateralen Auswertungssegmenten von Ebene 2 zu Ebene 5, sowie von Ebene 2 zu Ebene 1 – hier jedoch mit einer erheblichen statistischen Unschärfe. Anterolateral zeigten sich weitestgehend keine sicheren systematischen Unterschiede der Nervendichte entlang der 5 Ebenen. Lediglich in Ebene 4 wurde eine systematisch höhere Nervendichte als in den Ebenen 1, 3 und 5 gezählt.

III.3.4 Gesamtnervenanzahl (Nerven \leq 200 μ m)

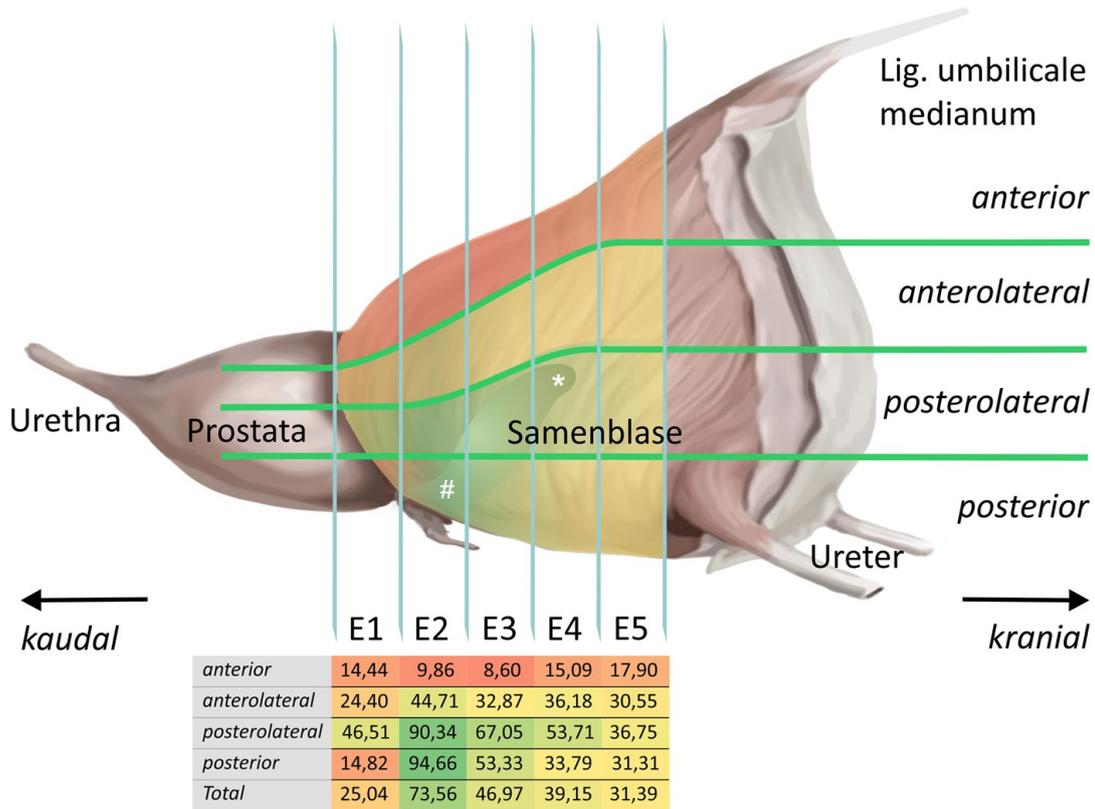


Abbildung 17: Darstellung der durchschnittlichen Anzahl PGP 9.5 gefärbter Nerven \leq 200 μ m je Auszähleinheit (Nervendichte) differenziert nach Ebenen und Auswertungssegmenten. Farbliche Visualisierung der Nervendichte von Dunkelrot = geringe Nervendichte bis Dunkelgrün = hohe Nervendichte, sowie tabellarische Auflistung der absoluten Zahlenwerte, E=Ebene, * Samenblasenspitze, # Samenblasenbasis

Abbildung 17 stellt die durchschnittliche Gesamtnervenanzahl (Nerven \leq 200 μ m) über alle Schalen (0-20mm) differenziert nach Ebenen und Auswertungssegmenten dar. Die Gesamtnervenanzahl entspricht somit der Summe aus Nerven $<$ 200 μ m und $>$ 200 μ m. Nerven $>$ 200 μ m tragen dabei jedoch im Schnitt nur zu weniger als 1% der Gesamtnervendichte bei. Daher entspricht die Beschreibung der Gesamtnervendichte weitestgehend der Nervendichte der Nerven $<$ 200 μ m (siehe oben). Es zeigte sich eine strake Verdichtung von Nervengewebe im posterioren Teil des Querschnitts auf Höhe der Samenblasenbasis (Ebene 2). Zudem ließ sich eine zunehmende Homogenisierung der Nervendichte von anterolateral bis posterior in kranialer Richtung erkennen. Ferner trugen die Nerven im posterioren Teil des Querschnitts stets zu mehr als 50% der Gesamtnervendichte je Ebene bei.

Wohingegen die anterioren Auswertungssegmente in Ebene 2 und 3 nur 23% und 26% zur Gesamtnervendichte der jeweiligen Ebenen beitragen, waren es in den Ebenen 1, 4 und 5 39%, 37% und 42%.

III.3.5 Kombiniertes Vergleich von Ebenen und Auswertungssegmenten in Schale A (0-5mm)

In Ebene 1, welche definitionsgemäß dem HPÜ entspricht, war kein über die Schale A hinausgehendes Gewebe vorhanden. Demzufolge entsprechen die Ergebnisse der Auszählung von Schale A denen der nicht nach Schalen differenzierten Auswertung (siehe III.3.3). Analoges gilt für die Nervendichte im anterioren Auswertungssegment.

Nerven <200µm

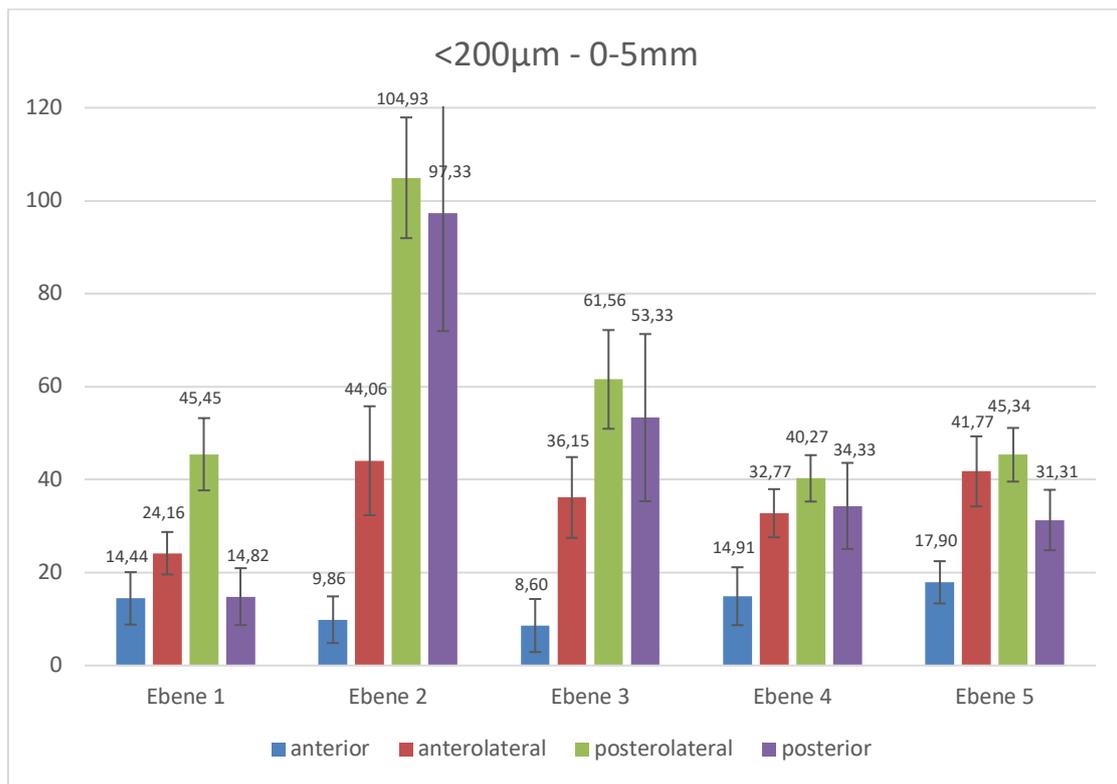


Abbildung 18: Darstellung der durchschnittlichen Anzahl PGP 9.5 gefärbter Nerven <200µm je Auszähleinheit (Nervendichte) in Schale A (0-5mm) differenziert nach Ebenen und Auswertungssegmenten. Die Fehlerindikatoren entsprechen dem 90%-Konfidenzintervall.

Die durchschnittliche absolute Nervendichte je Auszähleinheit von PGP 9.5 gefärbten Nerven <200µm differenziert nach Ebenen und Auswertungssegmenten für Schale A (0-5mm) sind in Tabelle 6 und Abbildung 18 dargestellt.

Neben dem errechneten Mittelwert wird jeweils nachstehend in Klammern der Standardfehler des Mittelwerts genannt.

In Ebene 1 wurde posterolateral die höchste Nervendichte der Nerven $<200\mu\text{m}$ mit im Durchschnitt 45,45 Nerven $<200\mu\text{m}$ (4,71) je Auszähleinheit erfasst. In den übrigen drei Auswertungssegmenten zeigte sich eine systematisch geringere Nervendichte. Anterior und posterior wurden mit durchschnittlich 14,44 (3,42) und 14,82 (3,71) Nerven $<200\mu\text{m}$ die geringsten Nervendichten in Ebene 1 erfasst. Anterolateral wurden mit 24,16 (2,77) Nerven $<200\mu\text{m}$ und bei Betrachtung der Konfidenzintervalle eine systematisch höhere Nervendichte als anterior und posterior gezählt.

In Ebene 2 wurden posterolateral und posterior systematisch die absolut höchsten Nervendichten, verglichen mit sämtlichen anderen Auswertungseinheiten, gezählt. Mit 104,93 (7,87) und 97,33 (15,38) erfassten Nerven $<200\mu\text{m}$ je Auszähleinheit posterolateral und posterior konnte von keinem statistisch signifikanten Unterschied zwischen den beiden posterioren Auswertungssegmenten ausgegangen werden. Von posterolateral nach anterior nahm die erfasste Nervendichte jeweils systematisch ab. Anterolateral wurden durchschnittlich 44,06 (7,10) und anterior 9,86 (3,04) Nerven $<200\mu\text{m}$ gezählt.

In Ebene 3 wurden anterior 8,60 (3,46), anterolateral 36,15 (5,27), posterolateral 61,56 (6,44) und posterior 53,33 (10,90) Nerven $<200\mu\text{m}$ je Auszähleinheit ausgezählt. Es zeigte sich ein mit Ebene 2 vergleichbares Verteilungsmuster, bei jedoch systematisch niedrigerer Nervendichte in den posterioren Auswertungssegmenten. Ferner konnte, entgegen den Beobachtungen in Ebene 2, kein eindeutig statistisch belastbarer Unterschied zwischen posteriorem und anterolateralem Auswertungssegment festgestellt werden.

In Ebene 4 wurde anterior eine Nervendichte von 14,91 (3,78), anterolateral 32,77 (3,14), posterolateral 40,27 (3,03) und posterior 34,33 (5,62) Nerven $<200\mu\text{m}$ je Auszähleinheit ermittelt. Anterior wurde die systematisch geringste Nervendichte erfasst. Zwischen den anderen drei Auswertungssegmenten dieser Ebene zeigte sich hingegen kein statistisch belastbarer Unterschied hinsichtlich der ausgezählten Nervendichte.

In Ebene 5 wurden anterior eine Nervendichte von 17,90 (2,75), anterolateral 41,77 (4,57), posterolateral 45,34 (3,50) und posterior 31,31 (3,94) Nerven <200µm je Auszähleinheit ermittelt. Damit befanden sich in Ebene 5 in den lateralen Auswertungssegmenten systematisch am meisten Nerven <200µm. Anterior kamen systematisch am wenigsten Nerven <200µm vor.

Zusammenfassend zeigte sich systematisch die niedrigsten Nervendichte der Nerven <200µm im anterioren Auswertungssegment. Lediglich in Ebene 1 wurden posterior gleichermaßen wenige Nerven erfasst wie anterior. Ferner war in den beiden anterioren Auswertungssegmenten eine verhältnismäßig homogene Verteilung der absoluten Nervendichte im Ebenenvergleich ersichtlich. Demgegenüber zeigt sich in den beiden posterioren Auswertungssegmenten ein prominent eingipfliger Verlauf, mit deutlichem und systematischem Maximum der Nervendichte der Nerven <200µm in Ebene 2. Konsekutiv zeigte sich ein Abfall der Nervendichte Richtung Ebene 1 und 5. Zwischen Ebene 4 und 5 zeigte sich jedoch kein systematischer Unterschied.

Nerven >200µm

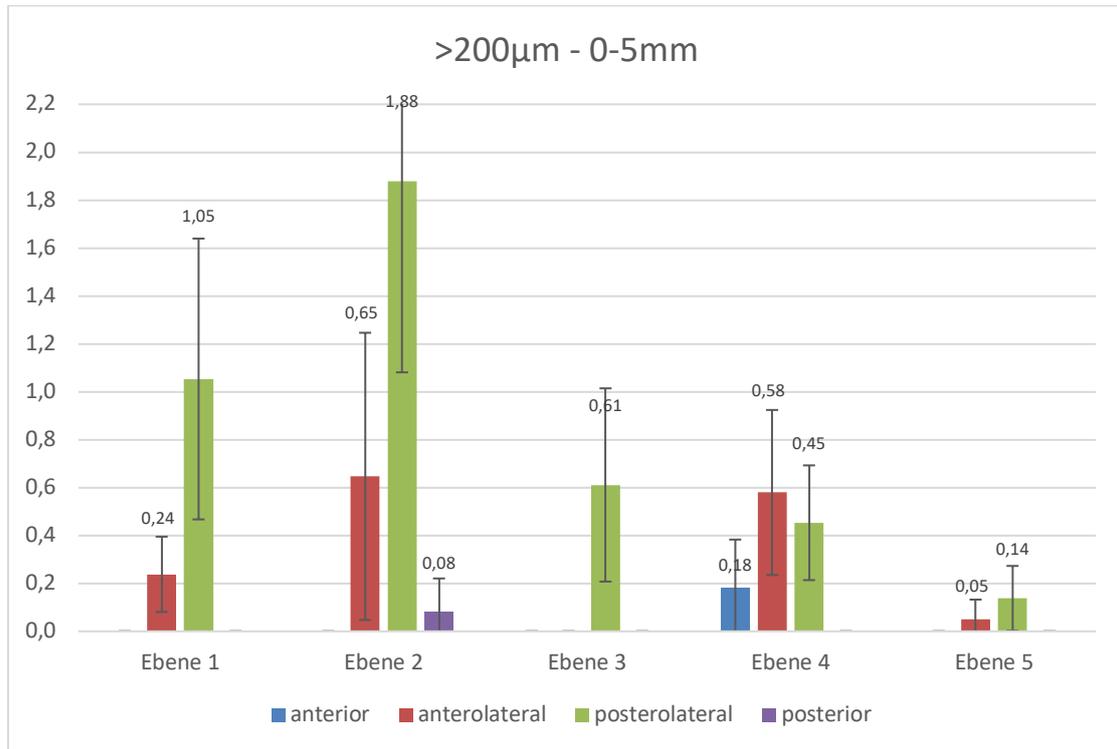


Abbildung 19: Darstellung der durchschnittlichen Nervenanzahl PGP 9.5 gefärbter Nerven >200µm je Auszähleinheit (Nervendichte) in Schale A (0-5mm) differenziert nach Ebenen und Auswertungssegmenten. Die Fehlerindikatoren entsprechen dem 90%-Konfidenzintervall.

Die durchschnittliche absolute Nervendichte je Auszähleinheit von PGP 9.5 gefärbten Nerven >200µm differenziert nach Ebenen und Auswertungssegmenten für Schale A (0-5mm) sind in Tabelle 7 und Abbildung 19 dargestellt. Neben dem errechneten Mittelwert wird jeweils nachstehend in Klammern der Standardfehler des Mittelwerts genannt.

In allen Ebenen wurden in den lateralen Auswertungssegmenten Nerven >200µm erfasst. Posterior wurden lediglich in Ebene 2 zusätzlich durchschnittlich 0,08 (0,08) Nerven >200µm je Auszähleinheit gezählt. Anterior wurden ausschließlich in Ebene 4 0,18 (0,12) Nerven >200µm gezählt.

In Ebene 1 wurde eine durchschnittliche Nervendichte von 0,24 (0,10) Nerven >200µm anterolateral und 1,05 (0,36) Nerven >200µm posterolateral je Auszähleinheit ermittelt. In Ebene 2 wurden anterolateral 0,65 (0,36) und posterolateral 1,88 (0,48) Nerven >200µm je Auszähleinheit erfasst. In beiden Fällen konnte die Differenz als systematisch angesehen werden.

In Ebene 3 wurden lediglich im posterolateralen Auswertungssegment Nerven erfasst. Durchschnittlich wurden dort eine Nervendichte von 0,61 (0,24) Nerven >200µm je Auszähleinheit ermittelt.

Ebene 4 wies 0,58 (0,21) Nerven >200µm je Auszähleinheit anterolateral und 0,45 (0,11) Nerven >200µm posterolateral auf. Die Betrachtung der Konfidenzintervalle zeigte jedoch keinen systematischen Unterschied. Gleiches galt für Ebene 5. Hier wurde mit einer anterolateral erfassten Nervendichte von 0,05 (0,05) und posterolateral 0,14 (0,08) Nerven >200µm je Auszähleinheit die geringsten Nervendichten in Schale A dokumentiert.

Zusammenfassend wurde in Ebene 1-3 posterolateral systematisch die höchste Nervendichte der Nerven >200µm erfasst. In den Ebenen 4 und 5 zeigte sich hingegen kein systematischer Unterschied zwischen dem anterolateralen und posterolateralen Auswertungssegment. Anterior und posterior fanden sich nahezu keine Nerven >200µm. Ferner konnte, analog zu den Beobachtungen für Nerven <200µm, ein systematisches Gefälle der Nervendichte der Nerven >200µm der posterolateralen Auswertungssegmente von Ebene 2 zu Ebene 5 festgestellt werden.

III.3.6 Kombiniertes Vergleich von Ebenen und Auswertungssegmenten in Schale B (5-10mm)

Wie in III.3.5 beschrieben, wurden in Ebene 1 keine Auswertungseinheiten über Schale A hinaus erfasst. Gleiches gilt für das anteriore Auswertungssegment. Posterolateral wurden Auswertungseinheiten in den Ebenen 2-5 dokumentiert. Anterolateral wurde nur Gewebe in den Ebenen 3-5 erfasst. Posterior wurde lediglich in Ebene 2 und 4 Gewebe erfasst.

Nerven <200µm

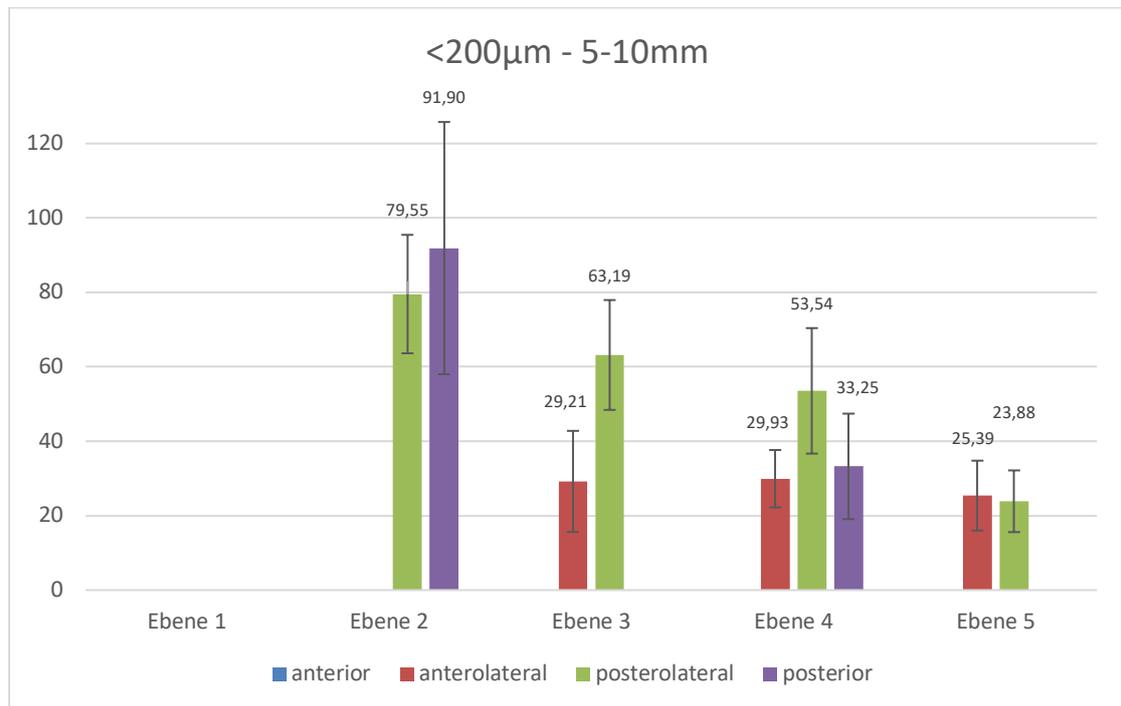


Abbildung 20: Darstellung der durchschnittlichen Anzahl PGP 9.5 gefärbter Nerven <200µm je Auszähleinheit (Nervendichte) in Schale B (5-10mm) differenziert nach Ebenen und Auswertungssegmenten. Die Fehlerindikatoren entsprechen dem 90%-Konfidenzintervall.

Die durchschnittliche absolute Nervendichte je Auszähleinheit von PGP 9.5 gefärbten Nerven <200µm differenziert nach Ebenen und Auswertungssegmenten für Schale B (5-10mm) sind in Tabelle 6 und Abbildung 20 dargestellt. Neben dem errechneten Mittelwert wird jeweils nachstehend in Klammern der Standardfehler des Mittelwerts genannt.

In Ebene 2 zeigte sich auf den untersuchten Präparaten lediglich Gewebe in den posterioren Auswertungssegmenten. Posterolateral wurde eine Nervendichte von 79,55 (9,65) und posterior von 91,90 (20,54) Nerven <200µm je Auszähleinheit ermittelt. Ein systematischer Unterschied zeigte sich nicht.

In Ebene 3 wiesen die Präparate anterior und posterior kein Gewebe auf. Im posterolateralen Auswertungssegmente befanden sich mit 63,19 (8,94) systematischer mehr Nerven <200µm je Auszähleinheit als anterolateral mit 29,21 (8,23) erfassten Nerven <200µm.

In Ebene 4 fand sich Gewebe vom anterolateralen bis zum posterioren Auswertungssegment. Anterolateral wurde eine Nervendichte von 29,93 (4,68), posterolateral 53,54 (10,22) und posterior 33,25 (8,59) Nerven <200µm je Auszähleinheit erfasst. Posterolateral wurde daher eine systematisch höhere Nervendichte als anterolateral und posterior ermittelt. Anterolateral und posterior unterschied sich die Nervendichte hingegen nicht systematisch voneinander.

In Ebene 5 wurde anterior und posterior kein Gewebe erfasst. Die lateralen Auswertungssegmente unterschieden sich in ihrer Nervendichte nicht systematisch voneinander. Anterolateral wurden 25,39 (5,69) und posterolateral 23,88 (5,02) Nerven <200µm je Auszähleinheit gezählt.

Zusammenfassen wurde in Schale B in Ebene 1, sowie anterior kein Gewebe erfasst. In Ebene 3 und 4 wurden posterolateral systematisch die höchsten Nervendichten der Nerven <200µm erfasst. In Ebene 2 und 5 zeigten sich keine systematischen Unterschiede zwischen den erfassten Auswertungssegmenten. Entlang der drei anterolateral erfassten Ebenen (3-5) zeigte sich eine homogene Verteilung der Nervendichte der Nerven <200µm ohne Hinweis auf systematische Unterschiede. Posterolateral hingegen imponierte, analog zu Schale A, ein deutlicher systematischer Abfall der Nervendichte der Nerven <200µm zwischen Ebene 2 und Ebene 5. Der Mittelwertvergleich zwischen Ebene 2,3 und 4 wies zwar einen Abwärtstrend auf, welcher jedoch statistisch nicht systematisch ausfiel. Posterior zeigte sich ebenfalls, analog zu Schale A, ein systematischer Abfall der Nervendichte der Nerven <200µm von caudal nach kranial.

Nerven >200µm

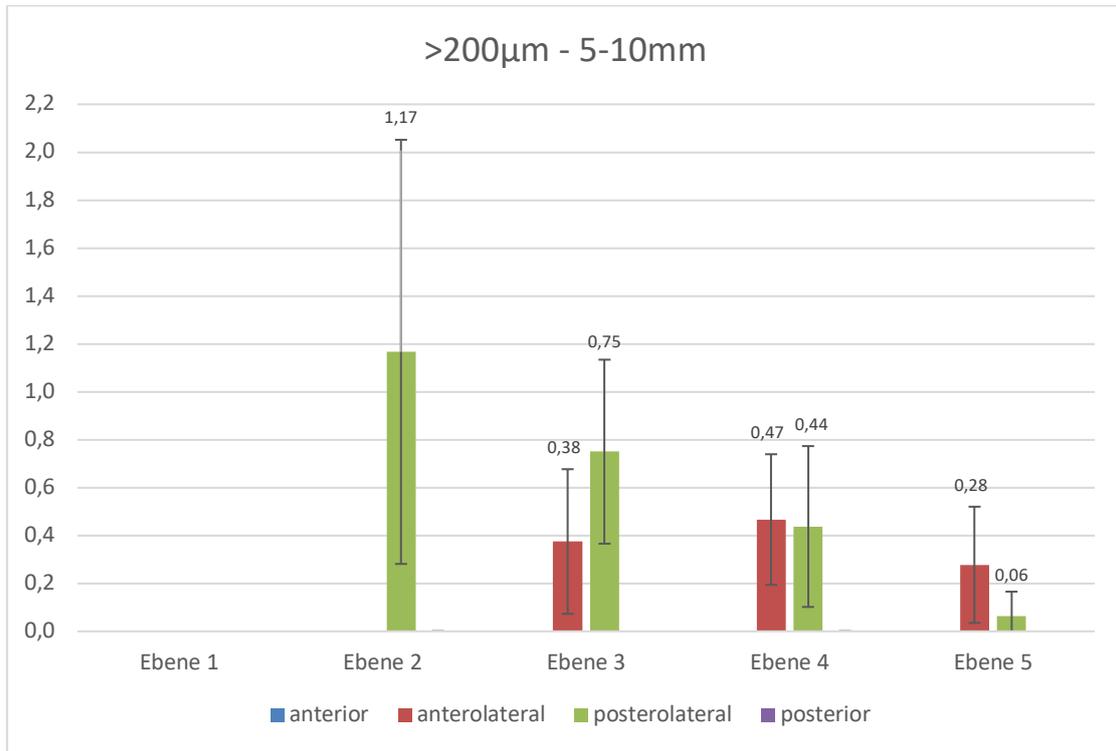


Abbildung 21: Darstellung der durchschnittlichen Anzahl PGP 9.5 gefärbter Nerven >200µm je Auszähleinheit (Nervendichte) in Schale B (5-10mm) differenziert nach Ebenen und Auswertungssegmenten. Die Fehlerindikatoren entsprechen dem 90%-Konfidenzintervall.

Die durchschnittliche absolute Nervendichte je Auszähleinheit von PGP 9.5 gefärbten Nerven >200µm differenziert nach Ebenen und Auswertungssegmenten für Schale B (5-10mm) sind in Tabelle 7 und Abbildung 21 dargestellt. Neben dem errechneten Mittelwert wird jeweils nachstehend in Klammern der Standardfehler des Mittelwerts genannt.

Von den beiden posterioren Auswertungssegmenten, welche in Ebene 2 erfasst wurden, ließen sich nur posterolateral Nerven >200µm nachweisen. Dort wurde eine Nervendichte von 1,17 (0,54) Nerven >200µm je Auszähleinheit ermittelt. In Ebene 3 lag die Nervendichte anterolateral bei 0,38 (0,18) und posterolateral bei 0,75 (0,23) Nerven >200µm je Auszähleinheit. Die Konfidenzintervalle überschneiden sich jedoch deutlich.

In Ebene 4 war die Nervendichte anterolateral und posterolateral nahezu identisch. Anterolateral wurden 0,47 (0,17) und posterolateral 0,44 (0,20) Nerven >200µm je Auszähleinheit erfasst. Posterior wurden keine Nerven >200µm

nachgewiesen. In Ebene 5 wurde anterolateral eine Nervendichte von 0,28 (0,15) und posterolateral von 0,06 (0,06) Nerven >200µm je Auszähleinheit ermittelt. Ein systematischer Unterschied zeigte sich nicht.

Zusammenfassend wurden in Schale B Nerven >200µm lediglich in den lateralen Auswertungssegmenten erfasst. Anterolateral und posterolateral zeigt sich eine den Nerven <200µm analoge Dynamik der Nervendichte der Nerven >200µm über die fünf Ebenen, bei jedoch größerer statistischer Unschärfe.

III.3.7 Kombiniertes Vergleich von Ebenen und Auswertungssegmenten in Schale C' (10-20mm)

Nerven <200µm

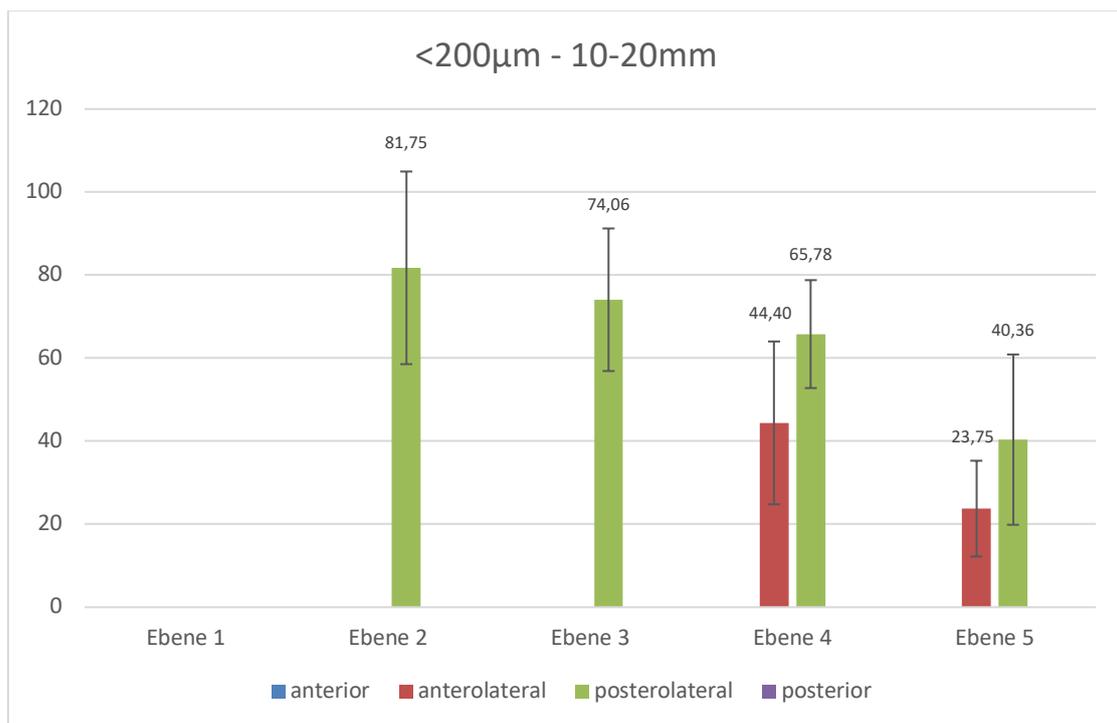


Abbildung 22: Darstellung der durchschnittlichen Anzahl PGP 9.5 gefärbter Nerven <200µm je Auszähleinheit (Nervendichte) in Schale C' (10-20mm) differenziert nach Ebenen und Auswertungssegmenten. Die Fehlerindikatoren entsprechen dem 90%-Konfidenzintervall.

In Schale C' wiesen die ausgewerteten Präparate lediglich anterolateral in Ebene 4 und 5, sowie posterolateral in Ebene 2-5 Gewebe auf.

Die durchschnittliche absolute Nervendichte je Auszähleinheit von PGP 9.5 gefärbten Nerven $<200\mu\text{m}$ differenziert nach Ebenen und Auswertungssegmenten für Schale C' (10-20mm) sind in Tabelle 6 und Abbildung 22 dargestellt. Neben dem errechneten Mittelwert wird jeweils nachstehend in Klammern der Standardfehler des Mittelwerts genannt.

Posterolateral wurden Nervendichten von 81,75 (14,06) Nerven $<200\mu\text{m}$ in Ebene 2, 74,06 (10,41) Nerven $<200\mu\text{m}$ in Ebene 3, 65,78 (7,88) Nerven $<200\mu\text{m}$ in Ebene 4 und 40,36 (12,43) Nerven $<200\mu\text{m}$ in Ebene 5 ermittelt. Damit wurde in Ebene 5 eine systematisch geringere Nervendichte als in Ebene 2 und 3 erfasst. Zwischen Ebene 4 und 5 fiel der Unterschied statistisch weniger belastbar aus.

In Ebene 4 und 5 wurden darüber hinaus Nerven $<200\mu\text{m}$ anterolateral erfasst. Mit 44,40 (11,89) Nerven $<200\mu\text{m}$ je Auszähleinheit in Ebene 4 und 23,75 (6,99) Nerven $<200\mu\text{m}$ in Ebene 5 waren dies jedoch weniger als posterolateral. Statistisch belastbar waren diese Unterschiede unter Berücksichtigung der Konfidenzintervalle jedoch nur sehr eingeschränkt.

Nerven >200µm

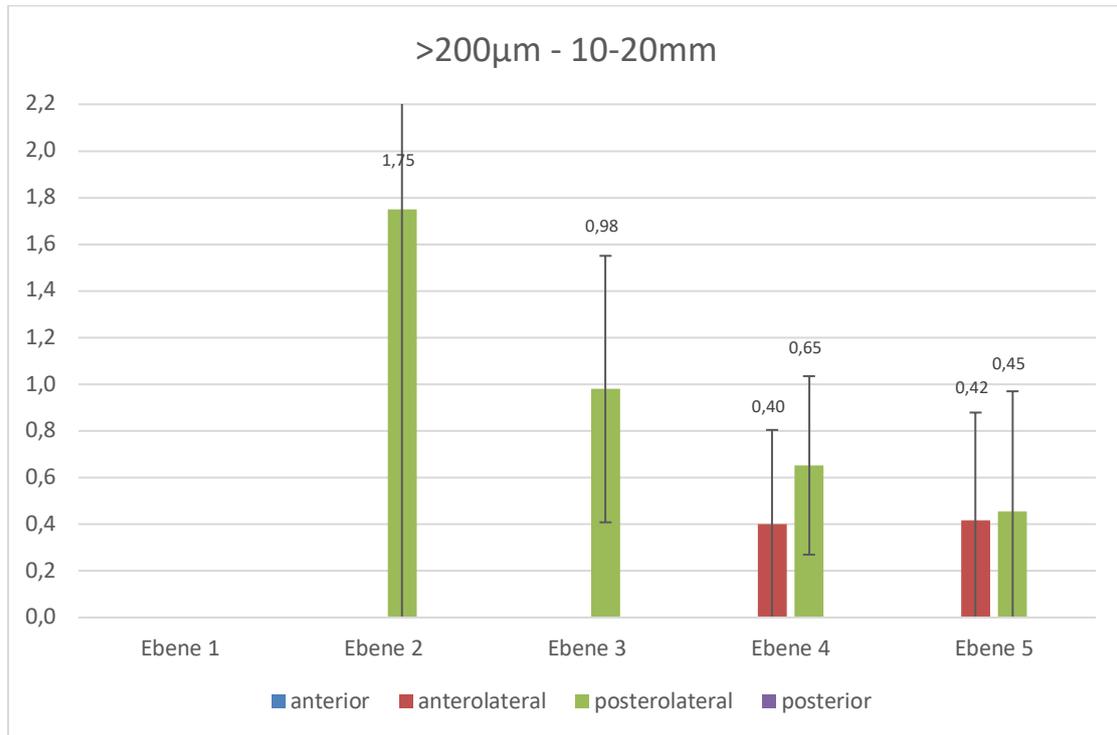


Abbildung 23: Darstellung der durchschnittlichen Anzahl PGP 9.5 gefärbter Nerven >200µm je Auszähleinheit (Nervendichte) in Schale C' (10-20mm) differenziert nach Ebenen und Auswertungssegmenten. Die Fehlerindikatoren entsprechen dem 90%-Konfidenzintervall.

Die durchschnittliche absolute Nervendichte je Auszähleinheit von PGP 9.5 gefärbten Nerven >200µm differenziert nach Ebenen und Auswertungssegmenten für Schale C' (10-20mm) sind in Tabelle 7 und Abbildung 23 dargestellt. Neben dem errechneten Mittelwert wird jeweils nachstehend in Klammern der Standardfehler des Mittelwerts genannt.

Posterolateral wurden Nervendichten von 1,75 (1,11) Nerven >200µm in Ebene 2, 0,98 (0,35) Nerven >200µm in Ebene 3, 0,65 (0,23) Nerven >200µm in Ebene 4 und 0,45 (0,31) Nerven >200µm in Ebene 5 ermittelt. Aufgrund der großen Konfidenzintervalle konnte keine seriöse Aussage über tatsächliche statistisch systematische Unterschiede gemacht werden. Das gleiche gilt für die anterolateral erfassten Nerven >200µm in den Ebenen 4 und 5. Hier wurde eine nahezu identische Nervendichte mit 0,40 (0,24) Nerven >200µm in Ebene 4 und 0,42 (0,28) Nerven >200µm in Ebene 5 ermittelt.

III.3.8 Verteilungsanalyse

	Ebene 1	Ebene 2	Ebene 3	Ebene 4	Ebene 5
	G	G	G	G	G
Mean	29,82	78,79	54,66	41,55	34,27
Standardabweichung	22,21	48,43	35,40	28,72	23,10
Variationskoeffizient	0,74	0,61	0,65	0,69	0,67
Minimum	0,00	3,00	0,00	0,00	2,00
Perzentile 25	14,00	44,00	26,00	22,00	16,00
Median	23,50	76,00	50,00	35,00	30,33
Perzentile 75	46,00	115,00	72,00	51,00	46,00
Maximum	99,00	204,00	156,00	175,00	148,00
Spannweite	99,00	201,00	156,00	175,00	146,00

Tabelle 8: Lage- und Streuungsparameter der Gesamtnervenanzahl G (Nerven $\leq 200\mu\text{m}$) je Auszähleinheit (Gesamtnervendichte) differenziert nach Ebenen.

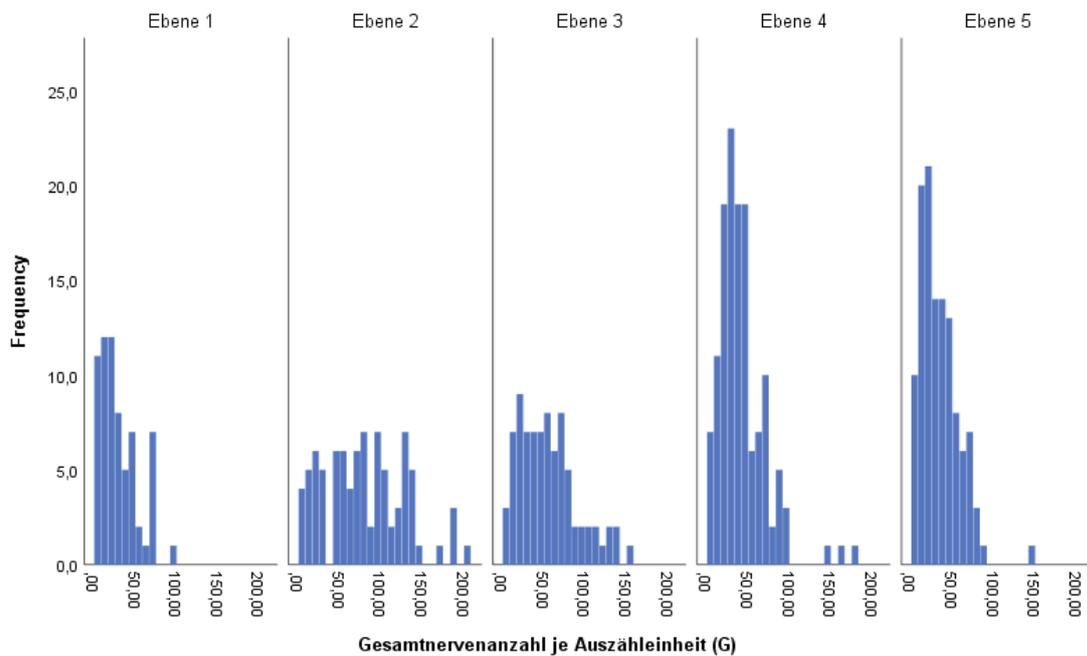


Abbildung 24: Graphische Darstellung der Verteilung der Gesamtnervenanzahl (Nerven $\leq 200\mu\text{m}$) je Auszähleinheit G (Gesamtnervendichte) je Auszähleinheit als Histogramm differenziert nach Ebenen.

Tabelle 8 stellt ausgewählte Verteilungs- und Streuungsparameter für die Gesamtnervenanzahl pro Auszähleinheit je Ebene dar. Abbildung 24

veranschaulicht, nach Ebenen differenziert, die Verteilung der erhobenen Gesamtnervenanzahl.

Es zeigte sich, dass in allen Ebenen eine rechtsschiefe Verteilung der Gesamtnervenanzahl zu beobachten war. Kleinere Werte als der Mittelwert waren folglich häufiger zu beobachten. Vor allen in den Ebenen 1 und 3, sowie noch akzentuierter in Ebene 4 und 5 war dies klar ersichtlich. In Ebene 2 zeigte sich hingegen eine ausgeglichene Verteilung der Nervendichte.

Die Betrachtung der Perzentile und Spannweite zeigte eine große Streuung der Gesamtnervendichte in der oberen Hälfte der Verteilung. Minimal wurde in Ebene 2 ca. 44% der Spannweite durch Werte oberhalb der 75. Perzentile repräsentiert. Maximal waren es 70% in Ebene 3. Die Spannweite der Nervendichte reichte dabei von minimal 99 Nerven in Ebene 1 bis zu maximal 201 Nerven in Ebene 2. Die samenblasen-assoziierten Ebenen 2-4 wiesen dabei mit Werten zwischen 201 und 156 die größten Spannweiten auf. Darüber hinaus zeigte sich in den Ebenen 2-4 über die gesamte Verteilung hinweg eine höhere Gesamtnervendichte als in den nicht samenblasenassoziierten Ebenen 1 und 5.

Demgegenüber imponierte die Streuung der Daten um den Mittelwert weitestgehend homogen. Als Parameter wurde der Variationskoeffizient (VarK)

$$VarK \frac{\textit{Standardabweichung}}{\textit{Mittelwert}}$$

als relatives, auf den Mittelwert normiertes Streuungsmaß, angewandt. Minimal lag dieser bei 61% in Ebene 2 und maximal bei 74% in Ebene 1.

III.4 Samenblasen

III.4.1 Verteilung der Gesamtnervenanzahl differenziert nach Ebenen und Vorhandensein von Samenblasengewebe

	Ebene 2		Ebene 3		Ebene 4	
	G_noSB	G_SB	G_noSB	G_SB	G_noSB	G_SB
Mean	56,33	102,32	36,53	97,72	34,34	85,18
Standardabweichung	41,28	44,35	19,27	26,56	19,00	38,30
Minimum	3,00	12,00	0,00	66,00	0,00	25,00
Perzentile 25	21,00	73,00	21,00	77,00	21,00	69,00
Median	53,50	95,50	38,67	89,00	32,00	78,00
Perzentile 75	97,00	129,00	51,00	118,50	44,00	93,00
Maximum	136,00	204,00	72,00	156,00	98,67	175,00
Spannweite	133,00	192,00	72,00	90,00	98,67	150,00

Tabelle 9: Lage- und Streuungsparameter der Gesamtnervenanzahl G (Nerven \leq 200 μ m) je Auszähleinheit gesondert für Auszähleinheiten mit (G_SB) und ohne (G_noSB) vorhandenes Samenblasengewebe differenziert nach Ebenen.

Tabelle 9, sowie Abbildung 25 und Abbildung 26 stellen die Verteilung der Gesamtnervendichte nach Ebenen und Vorhandensein von Samenblasengewebe getrennt dar. Entsprechend der anatomischen Definition lagen nur die Ebenen 2-4 auf Höhe der Samenblasen. Im Rahmen der folgenden Untersuchung wurden daher nur die drei samenblasenassoziierten Ebenen 2-4 berücksichtigt.

Betrachtet man Mittelwerte und Median der Verteilung, so fielen in allen Ebenen deutlich höhere Werte der Gesamtnervendichte in Proben mit Samenblasengewebe auf. Am prominentesten war dieser Unterschied in den Ebenen 3 und 4 ausgeprägt. Dort wurden in Proben mit Samenblasengewebe durchschnittlich eine 2,5-2,7-fach höhere Gesamtnervendichte erfasst. In Ebene 2 war es die 1,8-fache Gesamtnervendichte. Der Vergleich der Histogramme zeigte, dass Proben ohne Samenblasengewebe vermehrt eine Gesamtnervendichte kleiner 75 je Auswertungseinheit aufwiesen. Die Maximale Gesamtnervendichte je Auswertungseinheit überschritt in keiner der Ebene 150 Nerven je Auszähleinheit.

ERGEBNISSE

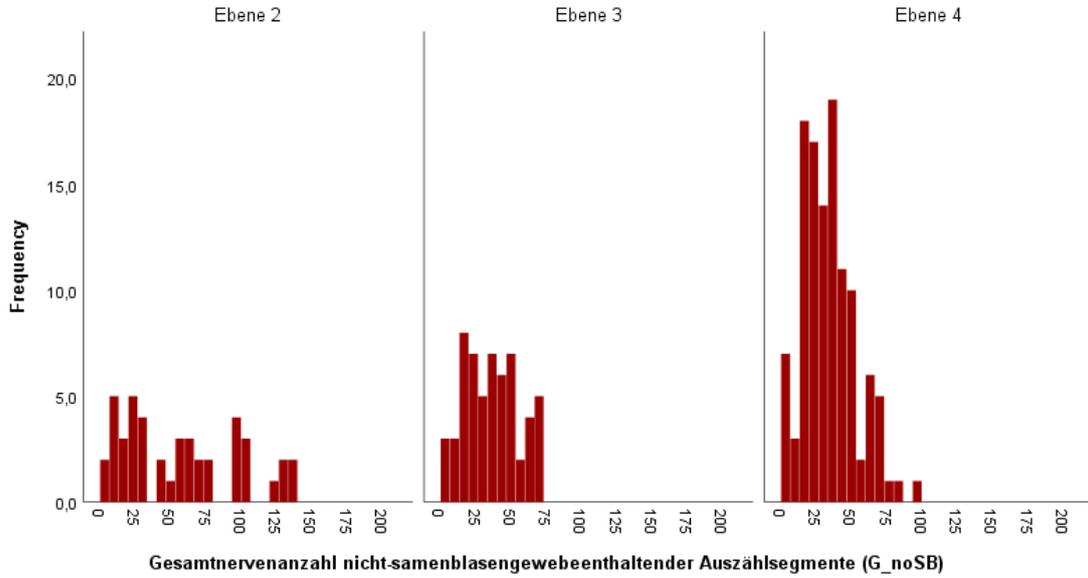


Abbildung 25: Graphische Darstellung der Verteilung der Gesamtnervenzahl G (Nerven \leq 200 μ m) je Auszählseinheit (Gesamtnervendichte) ohne vorhandenes Samenblasengewebe als Histogramm differenziert nach den samenblasenassoziierten Ebenen 2-4.

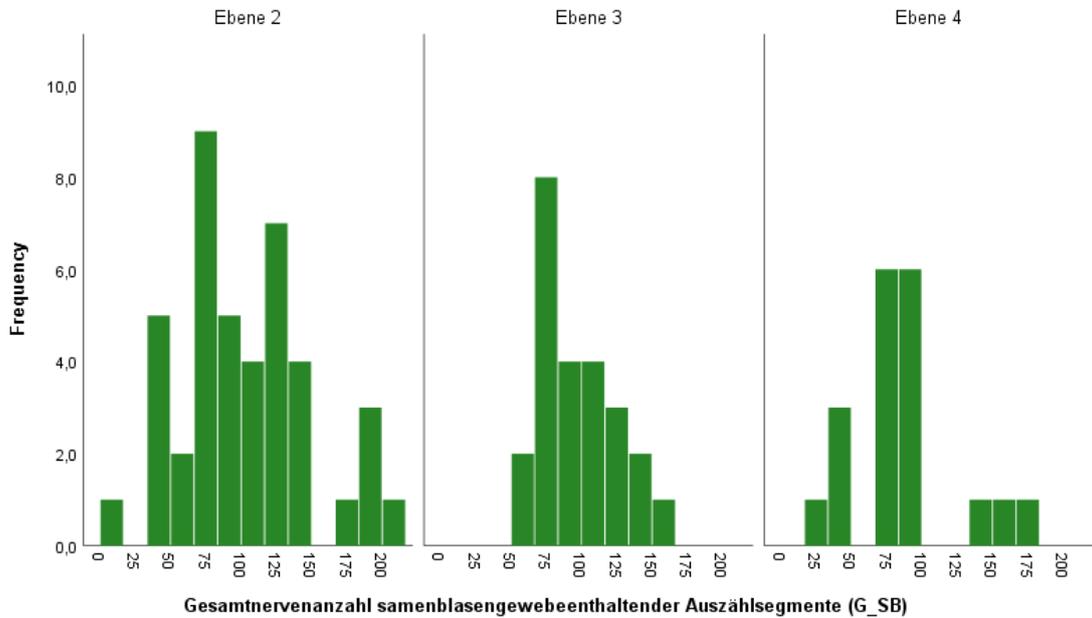


Abbildung 26: Graphische Darstellung der Verteilung der Gesamtnervenzahl G (Nerven \geq 200 μ m) je Auszählseinheit (Gesamtnervendichte) mit vorhandenem Samenblasengewebe als Histogramm differenziert nach den samenblasenassoziierten Ebenen 2-4.

Demgegenüber wies die Mehrzahl der Auswertungseinheiten in Proben mit Samenblasengewebe in allen Ebenen Nervenanzahlen von ≥ 75 Nerven je Auszähleinheit auf. Maximal wurden über 200 Nerven pro Auszähleinheit erfasst.

Bei Betrachtung der Perzentile bestätigte sich diese Systematik. So war die Verteilung der Gesamtnervendichte bei Proben mit Samenblasengewebe über alle ermittelten Perzentile deutlich nach rechts verschoben – wiesen also häufiger höhere Gesamtnervendichten je Auszähleinheit auf als Proben ohne Samenblasengewebe. Vor allem in der unteren Hälfte der Verteilung, sowie in den Ebenen 2 und 3 war dieser Unterschied besonders prominent ausgebildet.

Es zeigten sich also starke Hinweise für eine Assoziation zwischen Vorhandensein von Samenblasengewebe und einer höheren durchschnittlichen Gesamtnervendichte je Auszähleinheit.

III.4.2 Anatomische Deskription

Tabelle 10 und Tabelle 11 zeigen in den dunkel hinterlegten Feldern die relative und absolute (in Klammern) Häufigkeitsverteilung von Proben, welche Anteile mit Samenblasengewebe aufwiesen. Der Anteil an samenblasengewebe-bedeckter Fläche je Auswertungseinheit wurde nicht berücksichtigt. Untersucht wurden hierzu die Ebenen 2-4. Ebene 1 und 5 lagen gemäß ihrer anatomischen Definition außerhalb des Samenblasenbereichs.

Darüber hinaus zeigen Tabelle 10 und Tabelle 11 in den hell hinterlegten Feldern den relativen Anteil an der Gesamtnervendichte. Sämtliche Angaben sind nach Ebenen und Auswertungssegmenten differenziert. Eine Differenzierung nach Schalen wurde nicht vorgenommen.

ERGEBNISSE

	Ebene 1		Ebene 2		Ebene 3		Ebene 4		Ebene 5	
	SB Table Sum %	Nerven gesamt Table Sum %	SB Table Sum %	Nerven gesamt Table Sum %	SB Table Sum %	Nerven gesamt Table Sum %	SB Table Sum %	Nerven gesamt Table Sum %	SB Table Sum %	Nerven gesamt Table Sum %
anterior		1,9%	0,0%	1,3%	0,0%	1,1%	0,0%	2,0%		2,4%
anterolateral	keine SB	3,2%	0,0%	5,9%	1,2% (1)	4,3%	3,5% (3)	4,8%	keine SB	4,0%
posterolateral		6,1%	28,2% (24)	11,9%	21,2% (18)	8,9%	16,5% (14)	7,1%		4,9%
posterior		2,0%	21,2% (18)	12,5%	5,9% (5)	7,0%	2,4% (2)	4,5%		4,1%
Total		13,2%	49,4% (42)	31,6%	28,2% (24)	21,3%	22,4% (19)	18,4%		15,4%
		13,2%		100% (85)	71,3%			15,4%		

Tabelle 10: Gegenüberstellung der Verteilung von relativem Anteil der Auszähleinheiten mit Samenblasengewebe und relativem Anteil der Gesamtnervenanzahl je Auszähleinheit (Gesamtnervendichte). Nach Ebenen und Auswertungssegmenten differenzierte Darstellung. Dunkel hinterlegte Felder: absolute und relative Häufigkeitsverteilung der samenblasengewebeenthaltenden Präparate. Hell hinterlegte Felder: relativer Anteil der durchschnittlichen Gesamtnervenanzahl. Nach Ebenen und Auswertungssegmenten differenzierte Darstellung.

	Ebene 1-5				Ebene 2-4				
	SB Table Sum %	Nerven gesamt Table Sum %	SB Table Sum %	Nerven gesamt Table Sum %	SB Table Sum %	Nerven gesamt Table Sum %	Nerven gesamt Spalte %	SB Table Sum %	Nerven gesamt Table Sum %
anterior	0,0%	8,7%			0,0%	4,4%	6,2%		
anterolateral	4,7% (4)	22,3%	4,7% (4)	31,0%	4,7% (4)	15,0%	21,0%	4,7% (4)	19,4%
posterolateral	65,9% (56)	38,9%			65,9 (56)	27,9%	39,1%	95,3% (81)	51,9%
posterior	29,4% (25)	30,1%	95,3% (81)	69,0%	29,4% (25)	24%	33,7%		
Total	100% (85)	100,0%	100% (85)	100,0%	100% (85)	71,3%	100,0%	100,0%	71,3%

Tabelle 11: Gegenüberstellung der Verteilung von relativem Anteil der Auszähleinheiten mit Samenblasengewebe und relativem Anteil der Gesamtnervenanzahl je Auszähleinheit (Gesamtnervendichte). Dunkel hinterlegte Felder: absolute und relative Häufigkeitsverteilung der samenblasengewebeenthaltenden Präparate. Hell hinterlegte Felder: relativer Anteil der durchschnittlichen Gesamtnervenanzahl. Zusammenfassende Darstellung für die Ebenen 1-5, und gesondert für die samenblasenassoziierten Ebenen 2-4, sowie differenziert nach Auswertungssegmenten als auch gruppiert in anterioren und posterioren Teil.

Auftrittshäufigkeit von Samenblasengewebe (siehe Tabelle 10 und Tabelle 11 dunkel hinterlegte Flächen, Abbildung 27 und Abbildung 28 blaue Linie)

Es zeigte sich, dass insgesamt in 28,24% (85/301) der ausgewerteten Proben Samenblasengewebe erfasst wurde. Der größte Anteil dieser 85 Proben mit Samenblasengewebe wurde in Ebene 2, mit 49,4% (42), ermittelt. Nach kranial nahm dieser Anteil über Ebene 3 (28,2% [24]) hin zu Ebene 4 (22,4% [19]) kontinuierlich ab. Insgesamt lagen 95,3% [81] aller samenblasenenthaltenden Proben im posterioren Teil. Nahezu 2/3 der Proben verfielen alleine auf das posterolaterale Auswertungssegment. Betrachtet man die Ebenen jedoch differenziert, so zeigte sich in Ebene 2 eine tendenziell ausgeglichene Verteilung

zwischen posteriorem und posterolateralem Auswertungssegment. Demgegenüber wurden in Ebene 3 und 4 dreiviertel der Samenblasengewebe enthaltenden Proben im posterolateralen Auswertungssegment erfasst. Die 4,7% (4) der Samenblasengewebe enthaltenden Proben, welche im anterioren Teil gefunden wurden, verfielen allesamt auf die anterolateralen Auswertungssegmente der Ebenen 3 und 4. Im anterioren Auswertungssegment befand sich kein Samenblasengewebe.

Die selektive Betrachtung der Lokalisation der Nerven >200µm in Bezug auf die Samenblasen zeigte, dass in 26 von 31 (84%) Präparaten, welche Samenblasengewebe enthielten, Nerven >200µm ausschließlich anterior/ventral des Mittelpunktes der SB auftraten.

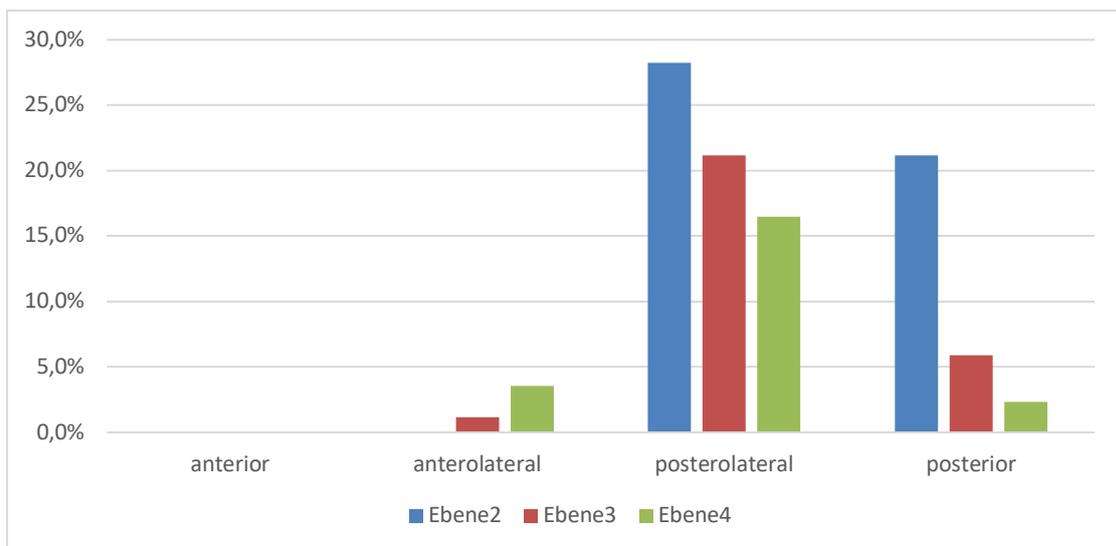


Abbildung 27: Verteilung der samenblasengewebeenthaltenden Auszähleinheiten nach Ebenen und Auswertungssegmenten.

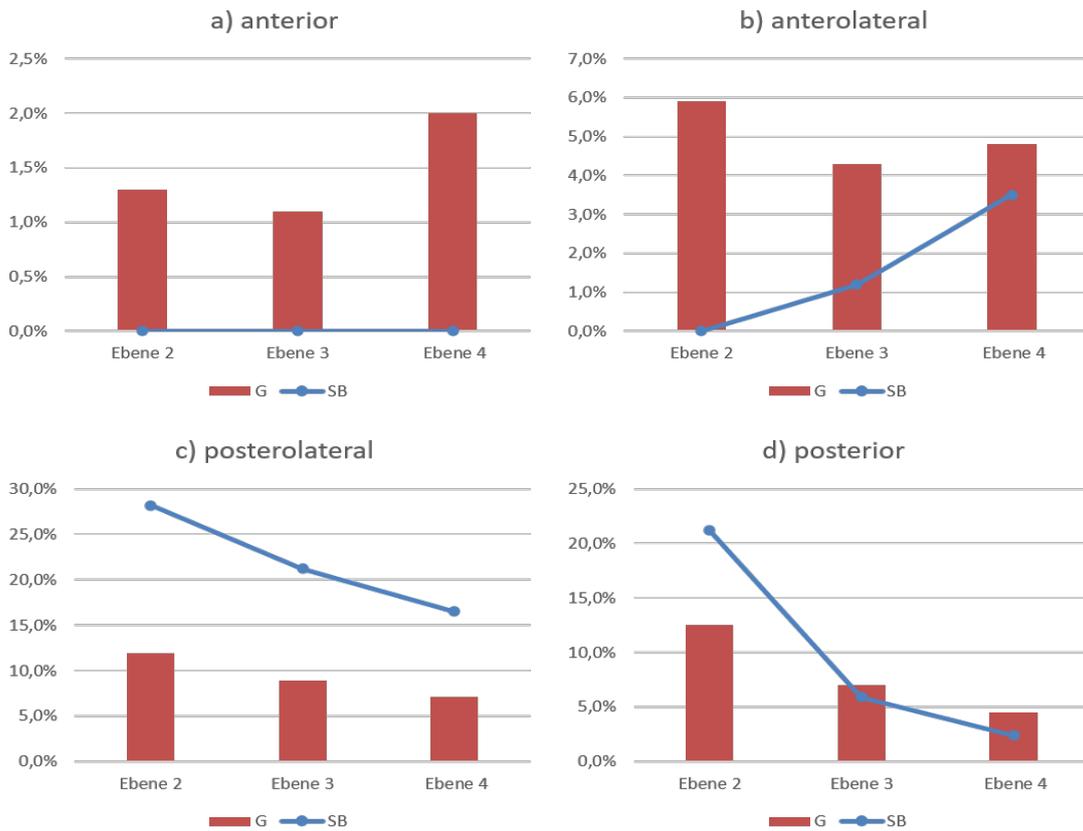


Abbildung 28: Gegenüberstellung der Verteilung von relativem Anteil der Auszähleinheiten mit Samenblasengewebe und relativem Anteil der Gesamtnervenanzahl (Nerven $</math> je Auszähleinheit (Gesamtnervendichte) differenziert nach Ebenen. a) anterior, b) anterolateral, c) posterolateral, d) posterior$

Vergleich der Auftrittshäufigkeit von Samenblasengewebe mit der durchschnittlichen relativen Gesamtnervenanzahl je Auszähleinheit [Gesamtnervendichte] (siehe Tabelle 10 und Tabelle 11, Abbildung 28)

Wie aus Tabelle 10 und Tabelle 11 ersichtlich wurde, repräsentierten die samenblasengewebeenthaltenden Ebenen 2-4 durchschnittlich 71,3% der Gesamtnervendichte entlang der Blasenwand. 13,2% entfielen auf Ebene 1 und 15,4% auf Ebene 5. Damit bilden die Samenblasengewebe-enthaltenden Ebenen, welche drei Fünftel (60%) aller Ebenen ausmachen, mit 71,3% einen überdurchschnittlichen Anteil der Gesamtnervendichte ab. Vor allem Ebene 2, in welcher nahezu die Hälfte der samenblasengewebeenthaltenden Auszähleinheiten gefunden wurden, trägt dabei zu dieser Überrepräsentanz am Anteil der Gesamtnervendichte bei. So bildet Ebene 2 nahezu 1/3 (31,6%) der Gesamtnervendichte ab.

Teilt man die Harnblase horizontal zwischen anterolateralem und posterolateralem Auswertungssegment in einen anterioren und posterioren Teil, so zeigten sich 95,3% aller Samenblasengewebe-enthaltenden Proben und 69,0% der Gesamtnervendichte im posterioren Teil der Harnblase. Betrachtet man ausschließlich die samenblasenassoziierten Ebenen 2-4, so bildete der posteriore Teil des Querschnitts mit einem Anteil von 72,8% einen noch größeren Anteil an der Gesamtnervendichte in Ebene 2-4 ab.

Zusammenfassen zeigte sich also, dass Bereiche mit einem hohen Anteil an Samenblasengewebe einen überdurchschnittlichen Anteil der Gesamtnervendichte repräsentieren. Dieses Bild war auch in der Makroansicht jeder Ebene konsistent zu beobachten.

III.4.3 Korrelation von Samenblasengewebe und Nervenanzahl

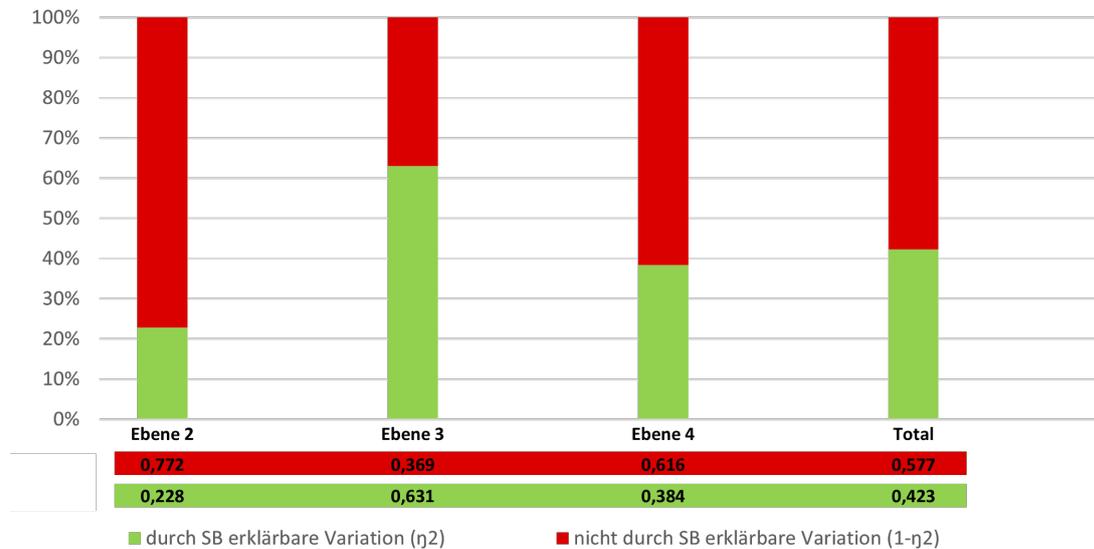


Abbildung 29: Graphische Darstellung des Anteils der durch das Vorkommen von Samenblasengewebe erklärbaren Variation der Nervenanzahl in Form von Eta-Quadrat η^2 .

Um den Zusammenhang zwischen dem Vorkommen von Samenblasengewebe (nominal skaliert) und der Gesamtnervenanzahl (metrisch skaliert) statistisch zu objektivieren, wurde der Eta-Koeffizient η berechnet. Die Berechnung von Eta-Quadrat η^2 veranschaulicht hierbei den Anteil der Variation der

Gesamtnervenanzahl je Auszähleinheit, welcher durch das Vorkommen von Samenblasengewebe erklärt werden kann (Adams and Conway, 2014).

Untersucht wurden die samenblasengewebeenthaltenden Ebenen 2-4. In Abbildung 29 sind Eta-Koeffizient η und Eta-Quadrat η^2 tabellarisch, sowie Eta-Quadrat η^2 graphisch abgebildet.

Die globale Betrachtung der Ebenen 2-4 zeigte eine starke Korrelation (Eta=0,65) zwischen Vorkommen von Samenblasengewebe und der Gesamtnervenanzahl. 42,3% ($p < 0,05$) der festgestellten Variation konnten durch den Faktor Samenblase erklärt werden.

Die Beobachtung einer signifikanten Korrelation bestätigte sich auch in der differenzierten Betrachtung der drei Ebenen. Am stärksten war die Korrelation in Ebene 3 ausgeprägt (Eta=0,794). Hier konnten statistisch signifikant 63,1% ($p < 0,05$) der Variation auf den Faktor Samenblase zurückgeführt werden. In Ebene 4 konnten 38,4% ($p < 0,05$; Eta=0,62) und in Ebene 2 noch 22,8% ($p < 0,05$; Eta=0,477) der Variation durch die Variable Samenblase erklärt werden.

Insgesamt zeigte sich also eine starke Korrelation zwischen Vorhandensein von Samenblasengewebe und Gesamtnervenanzahl je Auszähleinheit. Diese war in Ebene 3 deutlich am stärksten und in Ebene 2 am schwächsten – jedoch stets stark und statistisch signifikant – ausgeprägt.

III.4.4 Mittelwertvergleich zwischen Proben mit und ohne Samenblasengewebe

Im Folgenden wurde untersucht, ob sich Proben mit und ohne Samenblasengewebe hinsichtlich ihrer Nervenanzahl statistisch signifikant unterscheiden. Analog der Korrelationsuntersuchungen unter III.4.3 wurden sowohl eine globale Analyse aller samenblasenassoziierten Ebenen 2-4 gemeinsam durchgeführt, als auch differenzierte Untersuchungen gesondert für die drei genannten Ebenen. In die Teststatistik flossen jeweils nur die

Auswertungseinheiten mit ein, in welchen auch Samenblasengewebe erfasst wurde.

Als Testverfahren wurde stets der Welch-Test als robuster parametrischer Hypothesentest angewendet.

In der, die Ebenen 2-4 einschließenden, globalen Analyse zeigte sich, dass Auszähleinheiten mit Samenblasenanteilen durchschnittlich 54,3 (90%-CI [62,2; 46,9]) mehr Nerven enthielten als Auszähleinheiten ohne Samenblasenanteile. Die Beobachtung war auf einem Signifikanzniveau von $<0,1\%$ ($p<0,000$) signifikant.

In der nach Ebenen differenzierten Betrachtung bestätigte sich diese Beobachtung. Mit durchschnittlich 58,5 (90%-CI [68,6; 48,4]; $p<0,000$) mehr Nerven in Auszähleinheiten mit Samenblasengewebe, war der Unterschied in Ebene 3 am prominentesten. In Ebene 4 wurden in samenblasengewebeenthaltenden Auszähleinheiten durchschnittlich 48,8 (90%-CI [64,3; 33,3], $p<0,000$) mehr Nerven ausgezählt. Am geringsten, jedoch auch prominent, fiel der Unterschied in Ebene 2 aus. Hier wurden durchschnittlich 37,2 (90%-CI [52,8; 21,6], $p<0,000$) mehr Nerven in Auszähleinheiten mit Samenblasengewebe erfasst.

Es zeigte sich folglich in allen drei Ebenen 2-4, dass Auszähleinheiten mit Samenblasengewebe bei einem Signifikanzniveau von $<0,1\%$ deutlich mehr Nerven enthielten als Proben ohne Samenblasenanteile.

IV. Diskussion

IV.1 Methodische Einordnung

Es ist zu berücksichtigen, dass das im Rahmen dieser Arbeit untersuchte Gewebe aus Operationspräparaten stammt. Peripher der gewählten Schnittführung gelegenes Gewebe, welches in situ belassen wurde, konnte folglich nicht in die Auswertung miteingeschlossen werden. Aufgrund der Mindestanzahl von 4 Präparaten je Auswertungseinheit beruhen jedoch sämtliche in der Arbeit genannten Werte auf fundierten Durchschnittsbetrachtungen. Zudem ist anzumerken, dass bei der gewählten Methodik einzelne Nervenfasern nicht über deren Kontinuität hinweg beurteilt werden konnten. Aussagen zu Nervenverläufen entsprechen somit begründeten Hypothesen anhand des Verteilungsmusters der Nervendichte der einzelnen Auszähleinheiten.

IV.2 Perivesikale Verteilung autonomer Nerven

IV.2.1 Plexus hypogastricus inferior und Samenblasen

In Bezug auf die prinzipielle Lage des PHI in der rectovesicalen Umschlagsfalte zwischen Harnblase und Rektum herrscht weitestgehend Einigkeit (Alsaid et al., 2010; Amend and Stenzl, 2011). Die Bestimmung seiner exakten Lokalisation, vor allem auch in Bezug zu benachbarten Organen, ist jedoch weiterhin Gegenstand der wissenschaftlichen Auseinandersetzung und scheint interindividuellen Varianten zu zeigen. So haben vorausgegangene Untersuchungen vielfach eine enge Beziehung des PHI zu den Samenblasen gezeigt (Amend and Stenzl, 2011; Costello et al., 2004; Hollabaugh et al., 1998; Schwalenberg et al., 2010; Walsh and Schlegel, 1988). Baader und Herrmann (2003) zufolge befindet sich der anteriore Teil des PHI in enger Relation zu Ureter, Samenblase, Prostata und Blasenhalshals (Baader and Herrmann, 2003).

Die in dieser Arbeit erhobenen Daten stützen diese These einer engen Beziehung von PHI zu den Samenblasen. So war die Nervendichte in den

samenblasenassoziierten Ebenen 2-4 gegenüber den Ebenen 1 und 5 systematisch höher. Durchschnittlich befanden sich über 77% aller Nerven im Untersuchungsbereich auf Höhe der Samenblasen. Die größte Konzentration von Nervengewebe zeigte sich in Ebene 2, also im Bereich der Samenblasenbasis. Dort befanden sich durchschnittlich 1/3 aller Nerven des gesamten Untersuchungsgebiets. Deutlich über 3/4 der Nerven in Ebene 2, wie auch sämtliches (100%) Samenblasengewebe, befanden sich zudem in der posterioren Hälfte dieser Ebene.

Walsh and Schlegel (1988), sowie Hollabaugh et al. (1998) zufolge ist der Mittelpunkt des PHI auf Höhe der Samenblasenspitzen zu vermuten. In der vorliegenden Arbeit zeigt sich jedoch eine klare Konzentration von Nervengewebe auf Höhe, sowie in klarer und unmittelbarer der Assoziation zur Samenblasenbasis (Ebene 2). Zudem ist ein eingipfliger Verlauf der Nervendichte im posterioren Teil mit Maximum auf Höhe der Samenblasenbasis ersichtlich. So zeigt sich im posterioren Teil für die Nerven $</>200\mu\text{m}$ gleichermaßen ein kontinuierlicher systematischer Rückgang der Nervendichte in Richtung Samenblasenspitze (Ebene 4), sowie in Richtung des HPÜ. Dieses Verteilungsmuster ist vereinbar mit dem Vorhandensein eines Nervenplexus, welcher als Sammlungs- und Verteilerstruktur für Nervenfasern nach kranial und kaudal dient. Es ist also anzunehmen, dass ein relevanter Teil des PHI auch weiter kaudal auf Höhe der Samenblasenbasis lokalisiert ist. Alternativ kann argumentiert werden, dass nicht die Hauptmasse des PHI an sich, jedoch der zentrale Auftreffpunkt der PHI-Abgänge an Harnblase und Samenblasen auf Höhe der Samenblasenbasis zu liegen kommt.

Diese Arbeit liefert daher klare Argumente, dass im Rahmen chirurgischer Eingriffe an Harnblase und Prostata die Präparation im Bereich der Samenblasenbasis mit einem stark erhöhten Risiko für funktionell relevante Nervenläsionen einhergeht.

Hinsichtlich der Ausrichtung des PHI deuten diverse Studien auf eine lateral bis posterolaterale Lage in Bezug zur Samenblase hin (Alsaid, Bessedo et al., 2011; Amend and Stenzl, 2011; Hollabaugh et al., 1998). Lunacek et al. (2005) zufolge

befindet sich der PHI entlang des lateralen Aspekts der SB in unmittelbar enger Beziehung zu dieser (Lunacek et al., 2005). Alsaïd, Bessedè et al. (2011) beschreiben einen lateralen und einen posterioren Nervenfaserverlauf entlang der Samenblase. Der posteriore Verlauf zwischen Samenblase und Denovillierscher Faszie wird dabei funktionell vorwiegend der sympathischen Innervation von Ejakulationsdrüsen und Ductus deferens zugeschrieben. Die lateral der Samenblase verlaufenden Fasern sollen vor allem in Richtung Prostataapex und externem Blasensphinkter verlaufen, sowie der Prostatainnervation dienen. Sowohl in Teilen des lateralen als auch des posterioren Verlaufs wurden neben cholinergen (v.a. Innervation des erektilen Gewebes) und adrenergen auch sensorische Fasern nachgewiesen. Diese dienen wohl der sensiblen Innervation der Samenblasen, sowie der membranösen Urethra und leisten damit auch einen Beitrag zur Kontinenz (Alsaïd, Bessedè et al., 2011; Hugonnet et al., 1999; Stenzl et al., 2004). Diese gemischte Innervation verdeutlicht die wichtige Rolle des PHI als Integrationsort von autonomem und somatischem Nervensystem im kleinen Becken. Er fungiert damit als entscheidende Regelungs- und Steuerungsstruktur im unteren Harn- und Genitaltrakt (Alsaïd, Moszkowicz et al., 2011; Schwalenberg et al., 2010; Stenzl et al., 2004).

Anhand der vorliegenden Daten zur Nervendichte konnte zwar eine eindeutige und starke Korrelation zwischen erhöhter Nervendichte und dem Vorhandensein von Samenblasengewebe gezeigt werden. In den Samenblasengewebeenthaltenden Auszähleinheiten der samenblasenassoziierten Ebenen 2-4 wurden durchschnittlich 54,3 (90%-CI [62,2; 46,9], $p < 0,000$) mehr Nerven pro Auszähleinheit erfasst als in nicht samenblasengewebeenthaltenden Auszähleinheiten. Bis zu 42% der erhöhten Nervendichte in samenblasengewebeenthaltenden Auszähleinheiten konnten durch das Vorhandensein von Samenblasengewebe erklärt werden (siehe Abbildung 29). Eine dezidierte Aussage über die genaue Lage der Nerven $< 200\mu\text{m}$ mit direktem Bezug zur Samenblase, welche die überwiegende Mehrheit der erfassten Nerven ausmachen, kann jedoch nicht getätigt werden. Demgegenüber zeigte sich interessanterweise eine vordringlich lateral / anterolaterale Lage der Nerven

>200µm in Bezug zur Samenblase. So waren im posterioren Auswertungssegment nahezu keine Nerven >200µm erfasst worden. Bei 26 von 31 (84%) Präparaten, welche Samenblasengewebe enthielten traten Nerven >200µm ausschließlich anterior/ventral des Mittelpunktes der SB auf. Es kann davon ausgegangen werden, dass diese größeren nervalen Strukturen nicht vorwiegend der direkten lokalen Innervation dienen. Eine Beteiligung an der Innervation weiter distal gelegener, funktionell relevanter Strukturen, wie dem Sphinkterkomplex, dem NVB und des erektilen Gewebes, oder der Prostata ist daher plausibel. Eine Protektion dieser anterior/ventral der Samenblasen gelegenen Nerven im Rahmen chirurgischer Interventionen sollte daher, sofern onkologisch vertretbar, ernsthaft erwogen werden. (Alsaid, Bessedo et al., 2011; Costello et al., 2004; Madersbacher et al., 2004).

Ergänzend sei erwähnt, dass zwar, wie bereits erläutert, mit ca. 71% überdurchschnittlich viele Nerven des Untersuchungsgebiets dieser Arbeit in Ebenen mit Samenblasengewebe gezählt wurden. 72,8% dieser Nerven befanden sich dabei auch im posterioren Teil des Querschnitts, in welchem über 95% des Samenblasengewebes erfasst wurden. Im Umkehrschluss konnten jedoch auch über 1/4 aller erfassten Nerven in klassischerweise anterior der Samenblasen gelegenen Auswertungssegmenten (anterolateral und anterior) nachgewiesen werden. 77% davon im anterolateralen Auswertungssegment (siehe Tabelle 11). Inwieweit diese anterior der Samenblasen gelegenen Nervenfasern einen für Kontinenz und Potenz funktionellen Beitrag leisten ist anhand der vorliegenden Daten nicht abschließend zu klären – unter Würdigung diverser qualitativer Untersuchungen zur periprostatichen Nervenverteilung jedoch durchaus wahrscheinlich (siehe IV.3.2). Weitere Untersuchungen zur qualitativen Einordnung der perivesikalen Nerven sind daher zur abschließenden Klärung dieser Frage erforderlich

Wenn onkologisch vertretbar, sollte jedoch eine anterior erweiterte Nervschonung, insbesondere im Rahmen von Frühzystektomien erwogen werden. In der Regel ist aufgrund der meist lokal begrenzten Infiltrationstiefe in diesen Fällen ein onkologisch aussichtsreiches Ergebnis zu erwarten. Daher

besteht bei diesem Patientenkollektiv ganz besonders ein berechtigt hoher Anspruch auf einen größtmöglichen postoperativen Funktionserhalt.

Zusammenfassend und nach kritischer Betrachtung deuten die im Rahmen dieser Arbeit erhobenen Daten darauf hin, dass relevante Teile des PHI, oder dessen unmittelbarer Abgänge auch kaudal der Samenblasenspitze auf Höhe der Samenblasenbasis zu verorten sind. Ferner liefern die Daten dieser Arbeit Argumente, dass funktionell wichtige Nerven zur Innervation von kontinenz- und potenzrelevanten Strukturen nicht nur lateral / posterolateral der SB verlaufen, sondern zu einem relevanten Anteil auch anterolateral der SB. Bis zu 1/5 aller Nerven auf Höhe der Samenblasen wurden anterior des klassischerweise Samenblasen-enthaltenden posterioren Teils des Querschnitts erfasst.

IV.2.2 Nervenverteilung an der Harnblasenoberfläche und kraniale Homogenisierung

Bereits in früheren Studien zur unmittelbaren Innervation der Blasenwand konnte gezeigt werden, dass eine sehr hohe Nervprävalenzen im Bereich von Blasen Hals und Trigonum vesicae zu finden sind. 1966 wiesen el-Badawi und Schenk eine signifikant höhere Konzentration an muskarinergem und adrenerger Innervation an der Blasenbasis gegenüber dem Corpus vesicae nach (El-Badawi and Schenk, 1966). Gosling und Dixon sprachen 1974 von einer höheren Prävalenz autonomer Nerven im Bereich des Trigonum vesicae gegenüber dem Corpus vesicae (Gosling and Dixon, 1974). Fowler et al. (2008) beschrieben ein dichtes Netzwerk sensorischer Fasern konzentriert am Blasen Hals (Fowler et al., 2008). Purves et al. (2017) zufolge verlaufen Nervenfasern zur Blaseninnervation vom PHI direkt zum Trigonum vesicae (Purves et al., 2017). Neben einer Konzentration von Nervengewebe im kaudalen Blasenbereich, deuten diverse Studien zusätzlich auf eine weitere Fokussierung der Nerven in der posterioren Hälfte der Harnblase hin (Baader and Herrmann, 2003; Fowler et al., 2008; Spradling et al., 2015).

Die in dieser Arbeit erhobenen Daten stützen dieses Verteilungsmuster der Nervendichte mit Fokus im posterioren Teil von Blasen Hals und Trigonum

vesicae weitestgehend. So zeigte sich in Schale A (direkt perivesikal) in den kaudalen Ebenen der Harnblase (Ebenen 2-3), welche in etwa der Höhe von Blasen Hals und Trigonum vesicae entsprechen, die absolut und relativ stärkste Nervendichte in der posterioren Hälfte des Querschnitts mit Fokussierung in Ebene 2. Durchschnittlich 77 bzw. 74% aller Nerven von Schale A wurden in Ebene 2 und 3 in der posterioren Hälfte des Querschnitts erfasst. Bei Betrachtung der absoluten Nervendichte fiel eine klare Fokussierung in Ebene 2, also im kaudalen Bereich des Blasen Hals auf. Darüber hinaus zeigen die Daten, ausgehend von der Höhe der Samenblasenbasis nach kranial, eine kontinuierliche Homogenisierung der Nervendichte zwischen anterior und posterior. In Ebene 5 waren nur noch 58% aller Nerven in Schale A im posterioren Teil verortet (siehe Tabelle 6 und Tabelle 7).

Wie bereits diskutiert besteht in den Ebene 2-4 eine ausgeprägte Korrelation zwischen dem Vorhandensein von Samenblasengewebe, welches fast ausschließlich in der posterioren Hälfte des Querschnitts vorkommt, und einer erhöhten Nervendichte in diesem Bereich. Das Vorhandensein von Samenblasengewebe in den posterioren Auswertungssegmenten der Ebenen 2-4 führt somit zu einer deutlichen Fokussierung der Nervenverteilung auf die posteriore Hälfte des Querschnitts. Vor allem in Ebene 3 und 4 fiel die Korrelation zwischen Samenblasengewebe und erhöhter Nervendichte besonders stark aus. 61% bzw. 38% der erhöhten Nervendichte in direkter Samenblasenassoziation können dort durch das Vorhandensein von Samenblasengewebe erklärt werden. In Ebene 2 auf Höhe des kaudalen Blasen Halses waren es lediglich 23% (siehe Abbildung 29). Takenaka et al. (2009) zufolge trägt zwar ein Teil dieser Nerven zur dichten und direkten sympathischen Innervation der Samenblasen bei (Takenaka et al., 2009). Es ist jedoch davon auszugehen, dass ein wesentlicher Teil der perivesikalen Nerven – vor allem in Schale A (0-5mm) maßgeblich der direkten Harnblaseninnervation dienen. So liegen Takenaka et al. (2009) zufolge die Nerven zur Blaseninnervation in einem schmalen Bereich zwischen SB und Harnblase und damit von den die SB innervierenden Nerven klar getrennt (Takenaka et al., 2009). Die hohe Innervationsdichte im Bereich des Blasen Halses und des Trigonum vesicae unterstreicht die Rolle dieser

anatomischen Region - allen voran für eine adäquate antegrade Ejakulation (Jannini et al., 2002; Liao et al., 2019; McDonnell, 1992). Eine Vielzahl an sympathischen Fasern trägt hierbei zur glattmuskulären Kontraktion des Blasenhalses bei. Neuere Untersuchungen weisen jedoch darauf hin, dass vor allem auch die sympathisch gesteuerte Kontraktion des proximal des Verumontanum gelegenen Prostatagewebes entscheidend zum Erhalt einer antegraden Ejakulation beiträgt (Alloussi et al., 2014; Ronzoni and Vecchis, 1998; Yang et al., 2008).

Zudem unterstützt eine intakte Blasenhaliskontraktion den glattmuskulären und quergestreiftmuskulären urethralen Sphinkterkomplex bei der Aufrechterhaltung der Kontinenzfunktion (Amend and Stenzl, 2011; Fowler et al., 2008; Kessler et al., 2005; Purves et al., 2017; Schwalenberg et al., 2010; Spradling et al., 2015; Takenaka et al., 2004).

Es ist jedoch nur ein untergeordneter Beitrag zur Kontinenzhaltung durch funktionellen Erhalt der Blasenhalzfunktion zu erwarten. So zeigen sich bei Patienten nach TUR-P und Blasenhalresektion aber erhaltenem externen Sphinkterkomplex in der Regel nur minimale Inkontinenzraten von <2% (Alloussi et al., 2014; Gravas S. et al., 2020; Rassweiler et al., 2006).

Mit dieser Überlegung übereinstimmend zeigen die Daten dieser Arbeit posterior auf Höhe des kaudalen Blasenhalses die absolut höchste Nervendichte, jedoch auch die schwächste Korrelation zwischen erhöhter Nervendichte und Vorhandensein von Samenblasengewebe (siehe Abbildung 18 und Abbildung 29). Verglichen mit den weiter kranial gelegenen Ebenen 3 und 4 ist die sehr hohe Nervendichte im Bereich des kaudalen Endes des Blasenhalses in Ebene 2 also weniger stark auf das Vorhandensein der Samenblasen zurückzuführen. Wahrscheinlicher ist daher, dass die besonders hohe Nervendichte in Ebene 2 auf eine besonders dichte direkte Innervation des kaudalen Blasenhalses hinweist.

Andere Teile dieser Nerven werden darüber hinaus mit hoher Wahrscheinlichkeit der Innervation weiter distal gelegenen nervaler Strukturen, wie Prostata, Blasensphinkter und erektilen Gewebe dienen. Eine exakte funktionelle

Differenzierung der erfassten nervalen Strukturen können die vorliegenden Daten jedoch nicht leisten. Weiterführende funktionell differenzierende immunhistochemische Nervenfärbungen, analog den Beispielen von Costello et al. (2011), Ganzer et al. (2012) oder Sievert et al. (2019), könnten einen wertvollen Beitrag für eine funktionelle Einordnung der perivesikalen Nerven leisten, und die Grundlage für nachfolgende Arbeiten darstellen (Costello et al., 2011; Ganzer et al., 2012; Sievert et al., 2019).

Selbiges gilt in Bezug auf die perivesikalen Nerven in kranialer Richtung (Ebene 3-5). Eine eindeutige funktionelle Zuweisung ist auch hier nicht möglich. Die zunehmende Homogenisierung der Nervendichte zwischen anterior und posterior erscheint jedoch für eine allgemeine und diffuse Innervation der Harnblase in diesem Bereich suggestiv. Plausibel erscheint, dass es sich um motorische Fasern, sowie sensorische Fasern der Harnblasenwand und speziell des M. detrusors handelt.

IV.2.3 Zentrifugale perivesikale Nervenverteilung

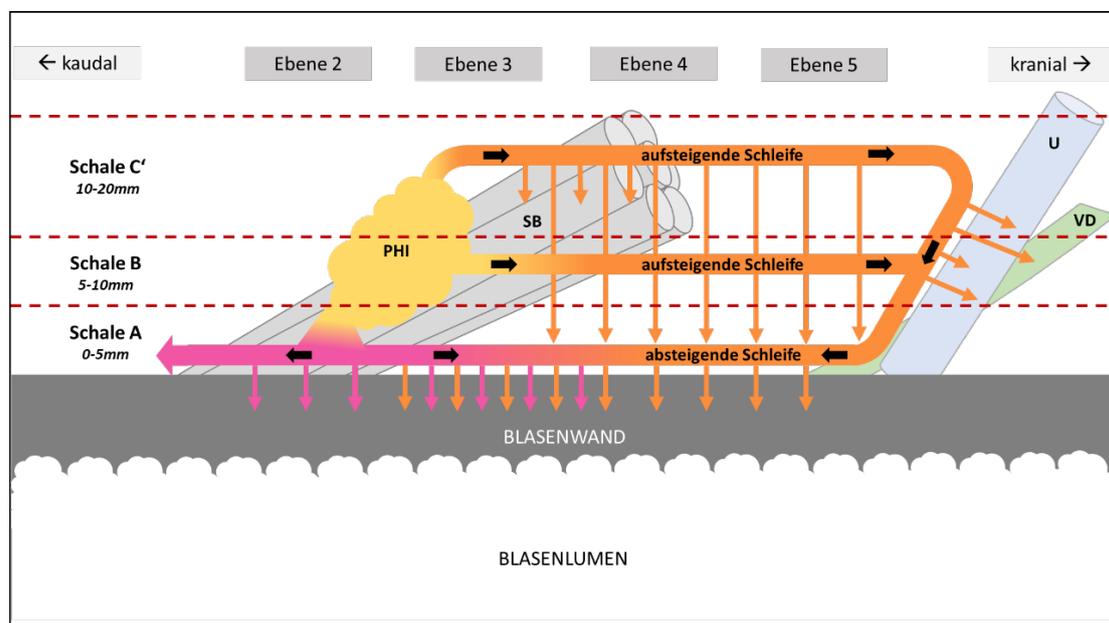


Abbildung 30: Schematischer sagittaler Harnblasenanschnitt: Darstellung möglicher paravesikaler Nervenfaserverläufe. PHI=Plexus hypogastricus inferior; SB=Samenblase; U=Ureter; VD=Vas deferens; kleine Pfeile entsprechen abgehenden Nervenendästen

Wie beschrieben scheint es plausibel, dass die der Blasenwand unmittelbar anliegenden Nerven (v.a. in den kranialen Ebenen) vordringlich der direkten

Blaseninnervation dienen. Die Nerven im Abstand $>5\text{mm}$ zur Blasenwand könnten somit einerseits zuführenden Nervenfasern für die Blaseninnervation derselben Ebene entsprechen. Andererseits erscheint auch die Möglichkeit weiterer parallel zur Blasenlängsachse verlaufender (funktionell) gesonderter Nervenfaserschichten denkbar. So ist Konsens, dass neben Harnblase, Samenblasen und den distal gelegenen Strukturen auch die Ductus deferentes, sowie die Ureteren von Nervenfasern des PHI versorgt werden (Alsaid, Bessedo et al., 2011; Kihara et al., 1998; Zaitouna et al., 2017).

Durch die im Rahmen dieser Arbeit erfolgte Nervendichtebestimmung ist die Annahme blasenwandferner zuführender Nervenfaserschichten nicht abschließend zu beantworten, da die erfassten Nerven nicht in ihrer Kontinuität beurteilt werden können.

Klar erscheint jedoch, dass die von Kessler et al. (2005) formulierte These, wonach die perivesikalen Nerven mit Bezug zur Harnblase medial des Fettgewebes liegen, bei dem in dieser Arbeit festgestellten Verteilungsmuster der Nerven, nicht verifiziert werden kann (Kessler et al., 2005). So wurde ein Großteil der perivesikalen Nerven entfernt der Blasenwand und damit innerhalb des Fettgewebes aufgefunden.

Unsere Daten zeigen, dass mit zunehmendem Abstand zur Blasenwand Schale B + C' Nerven ausschließlich von der Samenblasenbasis nach kranial und vor allem lateral, also zwischen 2 (10) und 5 (7) Uhr, auftreten. Die Hauptmasse war posterolateral zwischen 4 und 5 Uhr zu finden. Von Ebene 2, als vermutetem Auftreffpunkt des PHI, nach kranial zeigte sich blasenwandfern eine ähnlich hohe, beziehungsweise zum Teil höhere Nervendichte als in den direkt perivesikalen Bereichen. Akzentuiert zeigte sich diese Beobachtung - v.a. posterolateral - bei den Nerven $>200\mu\text{m}$ (siehe Tabelle 6 und Tabelle 7).

Es wird davon ausgegangen, dass die Innervation der Harnblase / des M. detrusor vesicae über zwei hauptsächliche „Hiluszonen“ erfolgt. Leissner et al. (2001) und Purves et al. (2017) haben gezeigt, dass einerseits ein Großteil der Detrusornerven vom PHI direkt zum Trigonum vesicae und Blasen Hals verläuft. Darüber hinaus befindet sich eine zweite Hiluszone im Bereich des

ureterovesikalen Übergangs (Leissner et al., 2001; Purves et al., 2017; Takenaka et al., 2009). Yucel et al. (2003) zufolge verlaufen große Teile dieser Detrusornerven vom ureterovesikalen Übergang in kaudaler Richtung auf der Adventitia zum Trigonum vesicae. Erst dort münden sie in den M. detrusor vesicae ein (Yucel and Baskin, 2003). Möglich erscheint daher, dass ein Teil der in Schale A erfassten Nerven, welche mit hoher Wahrscheinlichkeit der Detrusorinnervation dienen, vom ureterovesikalen Übergang kommend wieder nach kaudal ziehen. Die in den blasenwandferneren Schalen erfassten Nerven könnten somit teilweise der „aufsteigenden Schleife“ dieser dann „retrograd“ nach kaudal verlaufenden Detrusornerven in Schale A zuzuordnen sein – also deren proximale Kontinuität darstellen (siehe Abbildung 30). So treffen laut Baader und Herrmann (2003) die Nerven des PHI kurz vor der ureterovesikalen Einmündung, und damit mit etwas Abstand zur Blasenwand, auf die Ureteren (Baader and Herrmann, 2003). Ein mögliches Korrelat dieser Nervenbahnen (aufsteigende Schleife) könnten dabei die in dieser Arbeit erfassten konstant hohen Anteile an Nervenfasern mit größerem Querschnitt ($>200\mu\text{m}$) in den lateralen Abschnitten der blasenwandfernen Schalen darstellen (siehe Tabelle 7 und Abbildung 25). Kongruent hierzu ist die Annahme, dass diese größeren nervalen Leitungsbahnen wahrscheinlich v.a. der Innervation im Nervenverlauf weiter distal gelegener Zielstrukturen und weniger der direkten und unmittelbaren lokalen Innervation dienen.

Bei Annahme einer zusätzlich entfernt der Blasenwand parallel verlaufenden Nervenschicht, ist zudem anzunehmen, dass neben der Innervation von Samenblasen, Ureteren und Blasenwand auch Nervenfasern zu Innervation der Ductus deferentes einer solchen „aufsteigenden Schleife“ angehören. Die Ductus deferentes werden dabei vorwiegend durch adrenerge / sympathische Nervenfasern versorgt (Kihara et al., 1998).

Eine wie auch immer geartete Schädigung dieser blasenwandfern liegenden Nerven könnte somit zu vielfältigen Störungsmustern – auch in weiter kaudalen und kranialen Ebenen führen. Wahrscheinlich wären in erster Linie Auswirkungen auf die Detrusorfunktion. Darüber hinaus sind Funktionseinschränkungen in den kaudalen Blasenbereichen von Trigonum vesicae und Blasenhal mit

konsekutiver Auswirkung auf die antegrade Ejakulation, sowie auf die Sphinkter- / Kontinenzfunktion denkbar. Auch ein gestörter Spermientransport als Folge einer gestörten Innervation der Vasa deferentes könnten Teil eines solchen Schädigungsmusters sein.

Die Bestimmung von Nervendichten und -Häufigkeiten, wie es im Rahmen dieser Arbeit erfolgt ist, können hinsichtlich einer exakten Beschreibung einzelner Nervenverläufe jedoch letztendlich nur Annäherungen und begründete Hypothesen liefern. Weiterführende Untersuchungen sind zur sicheren und profunden Beantwortung des exakten Nervenverlaufs der perivesikalen Nerven jedoch weiterhin notwendig.

Neben elektrophysiologischen Untersuchungen könnte das Zusammenführen von histologischen Daten, wie sie in dieser Arbeit erhoben wurden, mit radiologischen Informationen ein sinnvolles methodischen Vorgehen darstellen, um Nervenverläufe in ihrer Kontinuität zu beschreiben. So könnten beispielsweise histologische Untersuchungen von Zystektomiepräparaten mit präoperativ gewonnenen Daten aus MRT diffusion tensor imaging (DTI) [deutsch: Diffusions-Tensor-Bildgebung] Untersuchungen desselben Patienten verbunden werden. Eine ähnliche Arbeit wurde von Sievert et al. (2019) durchgeführt. Dabei wurden die Informationen aus der differenzierten immunhistochemischen Färbung periprostatischer Nerven mit MRT-DTI Daten fünf gesunder Probanden gematched und gegenseitig validiert (Sievert et al., 2019).

Inwieweit in Folge solcher Studien auch eine verbesserte und individualisiertere präoperative Planung in Hinblick auf einen größtmöglichen Nerverhalt erzielt werden kann, bleibt mit Spannung zu verfolgen. Eine Verknüpfung und Validierung von Daten aus hochauflösenden bildgebenden Verfahren, wie der MRT-DTI Technologie mit histologischen Daten könnte hierzu einen wesentlichen Beitrag leisten (Jeurissen et al., 2019; Yamashita et al., 2013).

IV.3 Harnblasenhals und Harnblasen-Prostata-Übergang

IV.3.1 Quantitative Einordnung nach kaudal ziehender Nervverläufe

Bei der Betrachtung des HPÜ liegt der Fokus vor allem auf den nach kaudal verlaufenden Nervenfasern, welche mit hoher Wahrscheinlichkeit der Innervation von kontinenzrelevanten und potenzrelevanten Strukturen dienen. In Hinblick auf nerverhaltende Operationsverfahren zur Verbesserung des postoperativen funktionellen Outcomes ist diese anatomische Region daher von großer Bedeutung. In den 1980er Jahren beschrieben Walsh und Donker ein dorsolateral des HPÜ / der Prostata verlaufendes Nervenbündel (NVB), welches Nerven zur Innervation der Corpora cavernosa führe. Damit legten sie einen wichtigen Grundstein für die Etablierung und Weiterentwicklung nerverhaltender Prostatektomie- und Zystatoprostatektomietechniken (Walsh and Donker, 2002).

In den folgenden Dekaden wurden in zahlreichen Studien der PHI und der Verlauf seiner distalen Äste weiter untersucht. Die Ansicht eines weitestgehend isoliert verlaufenden NVB im Dreieck zwischen Prostata, M. levator ani und Rektum, welches vor allem der Innervation der Schwellkörper diene, wurde in diesem Zuge zunehmend kritisch hinterfragt (Madersbacher et al., 2004). Zwar zeigt sich dahingehend ein kongruentes Bild, dass die Hauptmasse der periprostatistischen Nerven analog der klassischen Ansicht posterolateral verlaufen. Neuere Studien legen jedoch eine deutlich großflächigere Verteilung der periprostatistischen Nerven nahe.

So beschrieben Costello et al. (2004) eine 3cm weite Spreizung des NVB auf Höhe des HPÜ. Zudem zeigten sie, dass Teile des NVB neben der Innervation von erektilen Gewebe und urethralem Sphinkter der Innervation des Rektums und M. levator ani dienen (Costello et al., 2004). Eichelberg et al. (2007), sowie Sievert et al. (2008) zeigten, dass auf Höhe der Prostatabasis in etwa ein Viertel (28% und 23%) aller erfassten Nerven im anterioren Teil des Querschnitts liegen (Eichelberg et al., 2007; Sievert et al., 2008). Diese Beobachtung wurde durch die Ergebnisse von Costello et al. (2011), welche ebenfalls über ein Viertel aller Nerven im anterioren Teil fanden, bestätigt (Costello et al., 2011). Auch Alsaid, Bessedo et al. (2011) fanden Nervenfasern des PHI, ausgehend vom Blasenhal

im anterioren Teil der Prostata wieder (Alsaid, Bessedo et al., 2011). Kiyoshima et al. (2004) zufolge war überhaupt nur in 52% der Fälle die Existenz eines konsistenten posterolateral verlaufenden NVB nachzuweisen (Kiyoshima et al., 2004). Lunacek et al. (2005) postulieren, dass die Dispersion des NVB bis in den anterioren Teil der lateralen Prostataseite unter anderem Folge der Größenausdehnung der Prostata in der Fetalperiode sei. Daher kann auch eine Volumenzunahme der Prostata im Rahmen einer benignen Prostatahyperplasie diese anteriore Dispersion weiter begünstigen (Lunacek et al., 2005).

Mit der Untersuchung der Nerven-anatomie des HPÜ stellt diese Untersuchung eine direkte Kontinuität in kranialer Richtung zu den bekannten Daten im Bereich der Prostatabasis her. Die in dieser Arbeit erhobenen Daten bestätigen einen hohen Anteil an Nerven im anterioren Teil des Querschnitts. 39% aller Nerven des HPÜ wurden im anterioren Teil erfasst. Allein 15% befanden sich im anterioren Auswertungssegment zwischen 11 Uhr und 1 Uhr. Demgegenüber wurden 46% der Nerven posterolateral, also im Bereich der klassischen Lokalisation des NVB, nachgewiesen. Somit zeigen die in dieser Arbeit erhobenen Daten zur Nerven-häufigkeit im Bereich des HPÜ, verglichen mit den Ergebnissen an der etwas weiter kaudal gelegenen Prostatabasis, einen deutlich höheren Anteil an Nerven im anterioren Teil. Korrespondierend dazu fällt der Anteil an Nerven posterolateral am HPÜ mit 46% zwar eindeutig prominent, jedoch deutlich geringer als an der Prostatabasis aus. Dort wurden in etwa zwei Drittel aller Nerven posterolateral erfasst (siehe Abbildung 31) (Alsaid, Bessedo et al., 2011; Eichelberg et al., 2007; Sievert et al., 2008).

In den Untersuchungen von Eichelberg et al. (2007) und Sievert et al. (2008), sowie von Ganzer et al. (2008) zeigte sich einheitlich eine Abnahme der absoluten Nervenanzahl entlang der gesamten Zirkumferenz in Richtung Prostataapex. Zudem erfassten sie eine zum Prostataapex hin zunehmende, relative Verdichtung von Nervengewebe im posterioren Teil des Querschnitts - vereinbar mit der klassischen Lokalisation des NVB. Gleichzeitig zeigte sich eine Abnahme der relativen Nerven-häufigkeit im anterioren Teil (Eichelberg et al., 2007; Ganzer et al., 2008b; Sievert et al., 2008).

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit lassen sich somit als kraniale Kontinuität dieser Beobachtung verstehen. Demnach kommt es nach kaudal zu einer Fokussierung der Nervenfasern im posterioren Teil des Querschnitts. Konsekutiv sind weiter kranial, auf Höhe von Prostatabasis und, wie in dieser Arbeit gezeigt, noch akzentuierter am HPÜ, größere Anteile von Nervengewebe im anterioren Teil zu erwarten.

IV.3.2 Qualitative Einordnung nach kaudal ziehender Nervenverläufe

Eine exakte funktionelle Zuordnung der vegetativen Nerven an Blasenhalshals und Prostata ist Stand heute nicht eindeutig möglich. In dieser Arbeit erfolgte keine qualitative Beschreibung der erfassten Nervenfasern. So wurde in der vorliegenden Arbeit PGP 9.5 als immunhistochemischer Nervenmarker verwendet. Dieser dient weitestgehend selektiv zur unspezifischen Anfärbung von neuronalem Gewebe. Dabei ist PGP 9.5 ein ubiquitär in sämtlichen Nervenzellen und Nervenfasern vorkommendes zytoplasmatisches Proteinprodukt. Es erlaubt daher eine zuverlässige quantitative Erfassung von Nervengewebe. (Gulbenkian et al., 1987; Wilson et al., 1988).

Für eine funktionelle Differenzierung einzelner nervalen Strukturen sind hingegen spezielle immunhistochemische Färbungen notwendig. Als selektive immunhistochemische Marker kommen zum Beispiel die neuronale NO-Synthase als cholinerg-parasympathischer Nervenmarker (Burnett et al., 1993), Tyrosin-Hydroxylase als adrenerger sympathischer Nervenmarker (Alsaid et al., 2009; Butler-Manuel, 2002), oder calcitonin-gene-related peptide als Marker für sensorische Innervation (Danielson et al., 2006) in Frage.

Vieles spricht jedoch dafür, dass die in dieser Arbeit erhobenen Daten zum HPÜ als Kontinuität der bestehenden Arbeiten zur quantitativen und qualitativen periprostatishen Nervverteilung verstanden werden können. Demnach können durch Einordnung der erhobenen Ergebnisse in den Kontext der bestehenden Literatur, qualifizierte Hypothesen Qualität der erfassten Nervenfasern aufgestellt werden.

Prostata

Es ist davon auszugehen, dass ein relevanter Anteil der am HPÜ erfassten Nerven weiter distal der direkten Innervation der Prostata dient. Dahinter steht die bereits postulierte Grundannahme einer Kontinuität unserer Daten des HPÜ mit der in der Literatur recherchierten periprostatistischen Nervenverteilung. So zeigt sich die unter IV.3.1 beschriebene absolute Abnahme der globalen Nervenhäufigkeit vom HPÜ nach kaudal zum Prostataapex hin. Zudem konnten Ganzer et al. (2012) zeigen, dass der Anteil sympathischer Fasern entlang der gesamten Zirkumferenz von der Prostatabasis hin zum Prostataapex signifikant abnahm (Ganzer et al., 2012). Auch Sievert et al. (2019) beschrieben eine entsprechende Verteilung sympathischer periprostatistischer Nerven (Amend et al., 2013; Sievert et al., 2019). Plausibel erscheint, dass ein wesentlicher Anteil dieser Ausdünnung sympathischer Nerven nach kaudal durch abgehende Nervenfasern zur sympathischen Innervation der Prostata und ggf. auch der membranösen Urethra bedingt ist (Benoit et al., 1994; Ganzer et al., 2012). Von funktioneller Relevanz ist hier v.a. der Beitrag dieser sympathischen Nerven für die Kontraktion des proximal des Verumontanum gelegenen Prostatagewebes. Diese Kontraktion trägt wohl relevant zum Erhalt einer antegraden Ejakulation bei. (Alloussi et al., 2014; Ronzoni and Vecchis, 1998; Yang et al., 2008). Gerade in Hinblick auf prostata- und samenblasenerhaltende- und ggf. nicht onkologische Indikationen zur Zystektomie ist daher eine Schonung dieser periprostatistischen sympathischen Nerven für eine postoperative erhaltende antegraden Ejakulation relevant.

Costello et al. (2004) zufolge dienen darüber hinaus auch Teile dieser abgehenden Fasern der Innervation von Rektum und M. levator ani (Costello et al., 2004).

Kontinenz

Auch der weiter distal liegende Sphinkter externus erhält wohl autonome (vorwiegend sympathische) Nervenfasern aus dem PHI. Es wird mittlerweile davon ausgegangen, dass der Sphinkter externus neben quergestreiften Fasern (Rhabdosphinkter), welche durch den N. pudendus innerviert werden,

zusätzliche innere glattmuskuläre Fasern (Lissosphinkter) besitzt. Diese glattmuskuläre Komponente dürfte entsprechend durch Nervenfasern des PHI innerviert werden (Alsaid et al., 2010; Amend and Stenzl, 2011; Kessler et al., 2005). Hollabaugh et al. (1997) zufolge treten diese wohl auf Höhe 5 und 7 Uhr in den urethralen Sphinkter ein (Hollabaugh et al., 1997). Inwieweit sich diese autonome Innervation auch in den in dieser Arbeit erfassten Nervenfasern am HPÜ wiederfindet, lässt sich nicht mit letzter Sicherheit sagen. So gehen zwar Takenaka et al. (2007) in Folge durchgeführter Elektrostimulationstests davon aus, dass das posterolateral verlaufende NVB im Wesentlichen die kontinenzrelevanten Nervenfasern enthält. Auch in diversen klinischen Studien zum funktionellen Outcome nach Zystektomie mit orthotroper Neoblase wird der Erhalt des NVB mit einer Verbesserung der Kontinenzraten und Rekonvaleszenz assoziiert (Furrer et al., 2018; Kessler et al., 2005; Nyame et al., 2016; O'Donnell and Finan, 1989; Stenzl et al., 2004; Turner et al., 1997b). Nicht abschließend geklärt ist jedoch, ob diese Fasern im gesamten Verlauf mit dem NVB assoziiert sind. In diesem Fall wären Sie wahrscheinlich auch Teil der in dieser Arbeit erfassten posterolateralen Akkumulation von Nervengewebe am HPÜ. Gestärkt wird diese Annahme von der Beobachtung von Ganzer et al. (2012), dass über 85% der periprostatichen sympathischen Nerven posterolateral, also im Bereich des NVB, verlaufen. Die Ergebnisse von Sievert et al. (2019) zeigen eine ähnliche Verteilungstendenz. Auch sie fanden deutlich über 50% aller sympathischen Nervenfasern posterolateral (Sievert et al., 2019). Demgegenüber fanden Costello et al. (2011) in ihren immunhistochemischen Studien einen Anteil zw. 36% und 39% an sympathischen Nervenfasern im anterioren Teil des Querschnitts. Sie gehen davon aus, dass auch die anterior gelegenen sympathischen Nerven, neben der Innervation von Prostata und umliegenden Blutgefäßen, zu Innervation des externen Urethrsphinkters und damit der Kontinenzhaltung beitragen (Costello et al., 2011). Auch Alsaid et al. (2010) bekräftigten in ihren immunhistochemischen Studien an männlichen Föten die

These zusätzlicher zum NVB anterolateral verlaufender Nervenbahnen, zur Innervation des Sphinkter externus (Alsaid et al., 2010).

Möglich ist jedoch auch, dass die kontinenzrelevanten Fasern erst an einem weiter distal gelegenen Punkt zum NVB hinzustoßen, oder lediglich in lokaler Nähe dazu verlaufen. So beschreibt Hollabaugh et al. (1998), dass die kontinenzrelevanten Nerven aus dem PHI unter der Levator ani Faszie geschützt zwischen Rektum und Beckenboden verlaufen. Damit lägen sie getrennt von den der Prostata dicht anliegenden Cavernosus Nerven (Hollabaugh et al., 1997). Auch Kessler et al. (2005) haben zusätzliche extrapudendale Nerven dorsolateral des Rektums innerhalb der Levator ani Faszie nachgewiesen (Kessler et al., 2005).

Für eine exakte und profunde Beschreibung des Verlaufs der kontinenzrelevanten autonomen Nervenfasern und deren anatomischer Lage am HPÜ sind folglich weitere Untersuchungen notwendig. So lange erscheint aus Gründen des Kontinenzerhalts, neben der Schonung des NVB, ein Erhalt der anterior / anterolateral gelegenen Nerven auf Höhe des HPÜ, sowie periprostatisch sinnvoll.

Potenz

Vor allem cholinerge parasymphatische Nervenfasern spielen die ausschlaggebende Rolle für eine suffiziente Erektion. Durch sie kommt es zum verstärkten arteriellen Zustrom in die Schwellkörper, sowie zur Vasodilatation der venösen Sinusoide mit konsekutiv reduziertem Blutabfluss. Sympathisch adrenerge Nervenfasern hingegen tragen maßgeblich zur antegraden Ejakulation bei. Somatische sensible Nervenfasern leisten eine wesentliche koordinierende Aufgabe im Rahmen einer physiologischen Sexualfunktion. Hierzu kommunizieren autonomes und somatisches Nervensystem an verschiedenen Orten miteinander (Akita et al., 2003; Alsaid et al., 2010, 2010; Kessler et al., 2005; Walsh and Schlegel, 1988).

Wie bereits erwähnt erfolgte 1982 durch Walsh und Donker die erstmalige detaillierte Beschreibung des NVB als zentrales posterolateral von Blase und

Prostata verlaufendes Nervenkonglomerat. Deren anatomischen Studien und klinischen Beobachtungen von erhöhten Raten postoperativer Impotenz nach Beschädigung des NVB führten zu der Annahme, dass im NVB die für die Potenz relevanten Nerven verlaufen (Walsh and Donker, 2002). Diese Annahme wurde in der Folge vielfach durch weitere anatomische und klinische Studien gestützt (Lue et al., 1984; Walsh and Schlegel, 1988). Baader and Herrmann (2003) zufolge wird das erektile Gewebe von inferioren Fasern des PHI über das NVB innerviert (Baader and Herrmann, 2003). Madersbacher et al. (2004) zeigten ebenfalls, dass die für die Erektion relevanten Nn. cavernosi im NVB verlaufen. Dieses liegt im Bindegewebedreieck zwischen M. levator ani, Prostata und Rektum – also in der klassischen posterolateralen Position (Madersbacher et al., 2004).

In jüngerer Zeit wurde jedoch, wie bereits dargestellt, die klassische Sicht eines isoliert posterolateral von Harnblase und Prostata konzentrierten Nervenverlaufs zunehmend kontrovers diskutiert und weiterentwickelt. So herrscht heute weitestgehend Einigkeit über die unter IV.3.1 beschriebene großflächigere periprostatichen Nervenverteilung mit einem relevanten Anteil an Nervengewebe im anterioren Teil des Querschnitts. Inwieweit jedoch auch für die Erektion funktionell relevante Nervenfasern großflächiger verstreut und über die „Grenzen“ des klassischen NVB hinaus verlaufen, ist weiterhin Gegenstand der wissenschaftlichen Auseinandersetzung. Vor allem die Frage, ob auch ein funktionell relevanter Anteil an parasymphatischen und damit für die Potenserhaltung relevanten Nervenfasern im anterioren Teil des Querschnitts verläuft, ist aus Aspekten der nerverhaltenden Chirurgie von Bedeutung.

Eichelberg et al. (2007), Sievert et al. (2008), sowie Costello et al. (2011) haben in ihren Untersuchungen in etwa ein Viertel aller periprostatichen Nerven der Prostatabasis im anterioren Teil des Querschnitts erfasst (Costello et al., 2004; Eichelberg et al., 2007; Sievert et al., 2008). Ergänzend hierzu wurde in nachfolgenden Untersuchungen eine Differenzierung der Nervverteilung nach Faserqualitäten durchgeführt. So fanden Sievert et al. (2019) durchschnittlich annähernd 25% aller parasymphatischen Nerven im anterioren Teil des Querschnitts. Auch hier konnte in Richtung Prostataapex eine klare Fokussierung

in den posterioren Teil des Querschnitts festgestellt werden. So fanden sich am Prostataapex lediglich 10,8% aller parasymphatischen Nerven dieser Ebene im anterioren Teil des Querschnitts. Demgegenüber waren es 39,4% an der Prostatabasis. Die absolute Nervenanzahl blieb dabei weitestgehend konstant (Sievert et al., 2019). Ganzer et al. (2012) erfassten 1,5% aller parasymphatischen Nerven auf Höhe des Prostataapex und 14,6% auf Höhe der Prostatabasis im anterioren Teil des Querschnitts. Demgegenüber befanden sich 78% bzw. 96,5% der parasymphatischen Nerven an Prostatabasis bzw. Prostataapex in der klassischen posterolateralen Position des NVB (Ganzer et al., 2012). Es zeigte sich also in beiden Studien eine posterolaterale Fokussierung der periprostatatischen parasymphatischen Nerven nach kaudal, bzw. fächerförmige Aufspreizung in Richtung Prostatabasis. Damit zeigt die Verteilung der paraprostatatischen parasymphatischen Nerven ein der Gesamtnervenverteilung analoges Verteilungsmuster.

Unsere Ergebnisse zeigen, dass ca. 39% aller erfassten Nerven am HPÜ im anterioren Teil des Querschnitts erfasst worden sind. Wie bereits postuliert kann eine Kontinuität des periprostatatischen Nervenverlaufs nach kranial zur Harnblase hin angenommen werden. Unter der Annahme eines der Gesamtnervenverteilung folgenden Verteilungsmusters der parasymphatischen Nerven, kann also am HPÜ durchaus mit einem relevanten Anteil parasymphatischer Nervenfasern im anterioren Teil des Querschnitts gerechnet werden – und damit außerhalb des klassischen NVB.

Kaiho et al. (2009) zeigten, dass aus der Elektrostimulation aller periprostatatischen Bereiche zwischen 1 und 5 Uhr eine Erhöhung des cavernösen Drucks resultierte. Die maximale Druckerhöhung ließ sich im Bereich des klassischen NVB (4-5 Uhr) erzielen. Damit bekräftigen sie die These, dass im NVB der Hauptanteil des für die Erektion relevanten Nervengewebes verläuft. Zusätzlich gehen sie jedoch von weiteren bis nach anterolateral reichenden erektilen periprostatatischen Nervenbahnen aus (Kaiho et al., 2009). Tewari et al. (2006) konnten akzessorische Nervenfaserverläufe in der anterioren Hälfte des Querschnitts feststellen. Sie gehen davon aus, dass diese zusätzlich zum klassischen NVB für den Potenserhalt relevant sind (Tewari et al., 2006).

KleinJan et al. (2019) konnten bei Prostatektomien zeigen, dass eine Nerv- und Faszienschonung bis auf Höhe 1 Uhr / 11 Uhr, zusätzlich zur Schonung des klassischen NVB, eine weitere Verbesserung der postoperativen erektilen Funktion um 5-10% erbrachte (KleinJan et al., 2019).

Studien bei radikalen Prostatektomien zeigen hinsichtlich einer weiter anterior gesetzten Schnittführung (z.B. Veil of Aphrodite Technik) positive Ergebnisse auf die postoperative Potenz. Inwieweit die vielversprechenden funktionellen Resultate auf einen tatsächlichen Nerverhalt oder vielmehr auf verringerte Traktion am eigentlichen NVB zurückzuführen sind ist nicht abschließend geklärt (Kaul et al., 2006; Menon et al., 2005; Nielsen et al., 2008). So konnten demgegenüber Chabert et al. (2008) keinen relevanten Vorteil durch die Veil of Aphrodite nachweisen (Chabert et al., 2008).

Zusammenfassen sollte, unter Würdigung des beschriebenen großflächigen Verteilungsmusters parasymphischer / potenzrelevanter Nerven, sowie positiver Ergebnisse einer weiter anterioren Schnittführung bei Prostatektomien, eine erweiterte Nervenschonung bis in den anterolateralen Sektor (2 und 11 Uhr) auch bei Zystektomien durchaus erwogen werden. Geht man, wie beschrieben, von einer zunehmenden Aufspreizung der parasymphischen Nerven von Prostataapex in Richtung Prostatabasis aus, so sollte die anteriore Nervenschonung vor allem von der Prostatabasis nach kranial hin priorisiert werden (Ganzer et al., 2012; Sievert et al., 2019).

IV.4 Chirurgischer Ansatz eines größtmöglichen Nerverhalts unter Berücksichtigung der neuroanatomischen Erkenntnisse dieser Arbeit

Unter Würdigung der bereits diskutierten neuroanatomischen Erkenntnisse dieser Arbeit und deren Kontextualisierung sollen im Folgenden Schlussfolgerungen für einen möglichst umfassenden Nerverhalt bei Zystektomien / Zystatoprostatektomien diskutiert werden. Einleitend sei erwähnt,

dass eine präoperativ erhaltene erektile- und oder erhaltene Kontinenzfunktion stets Voraussetzung für ein nerverhaltendes Vorgehen sein sollte.

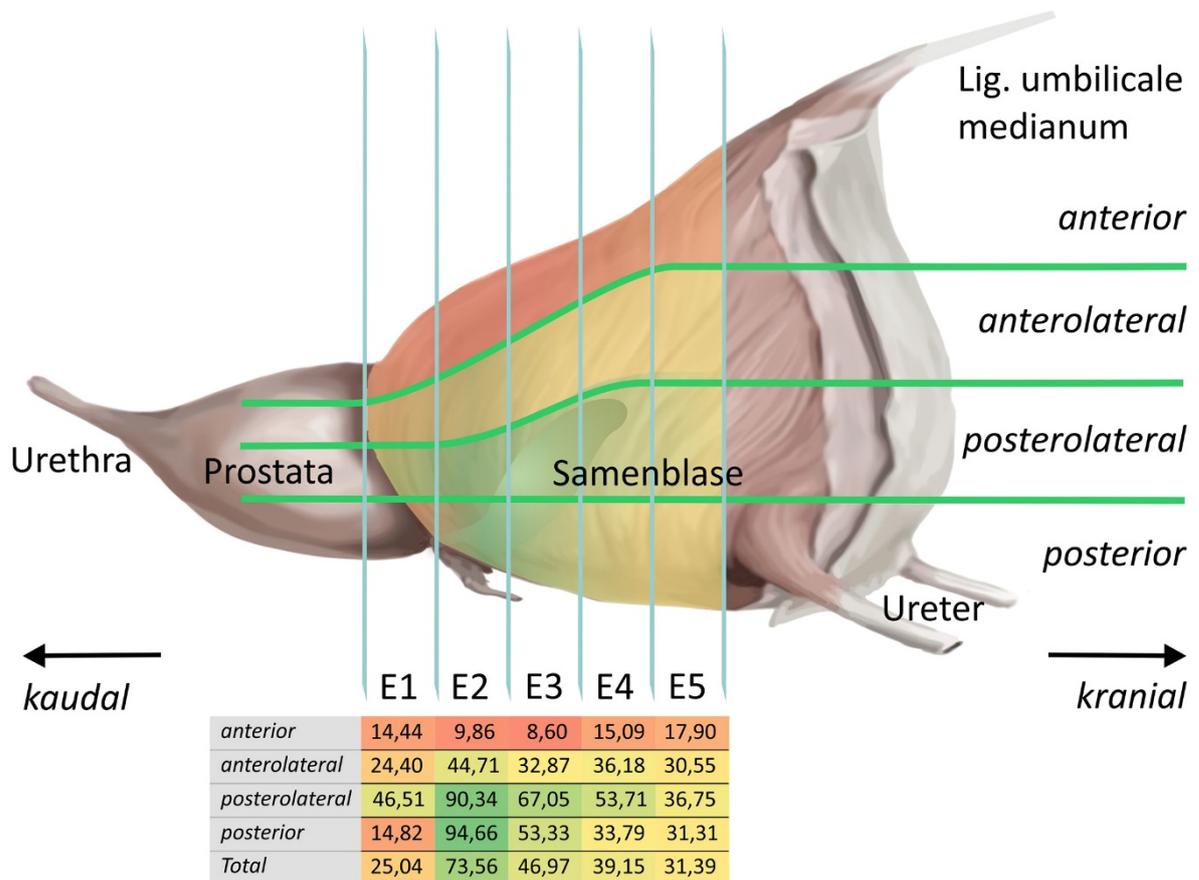


Abbildung 31: Darstellung der durchschnittlichen Anzahl PGP 9.5 gefärbter Nerven $</> 200\mu\text{m}$ je Auszähleinheit (Nervendichte) differenziert nach Ebenen und Auswertungssegmenten. Farbliche Visualisierung der Nervendichte von Dunkelrot = geringe Nervendichte bis Dunkelgrün = hohe Nervendichte, sowie tabellarische Auflistung der absoluten Zahlenwerte, E=Ebene

Wie in IV.2.1 geschildert und in Abbildung 31 ersichtlich, kann davon ausgegangen werden, dass die für die Innervation der urogenitalen Organe wichtigen Abgänge des PHI auf Höhe des Harnblasenhalses und besonders fokussiert auf Höhe dessen kaudalen Endes auf die Harnblase treffen. Von diesem Punkt ausgehend scheint, im Sinne einer Verteilerstruktur, die Innervation der wichtigen weiter distal/kaudal gelegenen urogenitalen Zielstrukturen, wie Blasensphinkter, Prostata, Schwellkörper etc. auszugehen. Nach kranial ziehende Nervenfasern, welche wahrscheinlich maßgeblich der allgemeinen Detrusorinnervation dienen, sind daher im Falle einer Zystektomie von eher untergeordneter Relevanz. Konsekutiv ist anzunehmen, dass im Sinne

eines Kontinenz- und Potenserhalts vordringlich Nervengewebe vom Blasen Hals nach kaudal zu schonen ist und damit im Fokus des operativen Nerverhaltens stehen sollte.

Prinzipiell stützen unsere Daten den üblicherweise sorgfältig durchgeführten Nerverhalt im posterioren Teil des Querschnitts. Analog dem klassischerweise posterolateral verlaufenden NVB zeigen die Daten dieser Arbeit am kaudalen Harnblasenhals und HPÜ eine posterolaterale Fokussierung der erfassten Nerven. Ganz besonders akzentuiert war diese Verteilung zudem bei den Nerven >200µm ersichtlich, welche in Ebene 1 und 2 zu 82% und 72% posterolateral erfasst wurden.

Die klassische Nervschonung bei Zystektomien mit einer Dissektionsebene posterior der Samenblasen, wie sie durch Walsh und Schlegel begründet wurde, sollte jedoch kritisch hinterfragt werden. So zeigen unsere Ergebnisse, dass 95% des Samenblasengewebes im posterioren Teil des Querschnitts erfasst wurden, jedoch 29% der Gesamtnervendichte auf den anterioren Teil des Querschnitts verfielen. In Ebene 1 am HPÜ waren es sogar 39%. Zudem zeigte sich, dass 84% aller Nerven >200µm anterior der Samenblasen erfasst wurden.

Wie bereits beschrieben kann von einer Kontinuität der periprostatichen Nerven nach kranial zur Harnblase hin ausgegangen werden. Hierbei zeigt sich eine relative Verdichtung von Nervengewebe posterolateral in Richtung Prostataapex. Korrespondierend dazu fällt eine trichterförmige Aufspreizung der Nervenverteilung mit größer werdenden anterior gelegenen Nervanteilen hin zur Prostatabasis auf. In etwa ein Viertel der Nerven befinden sich demnach an der Prostatabasis im anterioren Teil des Querschnitts. Costello et al. (2004) sprechen von einer 3cm Spreizung des NVB am HPÜ (Costello et al., 2004). Mit 39% der Nerven im anterioren Teil des Querschnitts am HPÜ reihen sich unsere Daten in dieses Verteilungsmuster ein.

In Hinblick auf die unter IV.3.2 diskutierte funktionelle Zuordnung dieser anterior gelegenen Nerven kann davon ausgegangen werden, dass relevante Anteile funktionell bedeutsamen Nervengewebes v.a. für die Potenz (und wohl auch für

die Kontinenz) auch im anterioren Teil des Querschnitts – und konzentriert anterolateral – verlaufen.

Zusammenfassend sollte daher eine weiter anterior angesetzte Dissektionsebene – vor allem vom Harnblasenhals nach kaudal erwogen werden. Eine Nervschonung kranial des Blasenhalsses spielt dabei für Kontinenz- und Potenserhalt eine wohl eher untergeordnete Rolle. In Anbetracht der eher geringen Anzahl an Nervengewebe kranial 11 bis 2 Uhr, erscheint eine Dissektionsebene auf Höhe 1-2 bzw. 10-11 Uhr sinnvoll. Gemessen am hohen Anteil an Nervengewebe, welches auch anterior der Samenblasen erfasst wurde (ganz besonders akzentuiert bei den Nerven $>200\mu\text{m}$) erscheint zudem die klassischerweise posterior der Samenblase gewählte Dissektionsebene nicht ausreichend weit anterior gewählt zu sein.

V. Zusammenfassung

Das Harnblasenkarzinom entspricht der vierthäufigsten Tumorerkrankung des Mannes. Damit stellt es ein relevantes Gesundheitsproblem dar. Nach wie vor gilt beim muskelinvasiven Harnblasenkarzinom die radikale Zystoprostatektomie als Standardtherapieoption. Die zunehmende Fokussierung auf nerverhaltende Operationsansätze bei Zystoprostatektomien zur Behandlung des Harnblasenkarzinoms erfordert eine detaillierte Kenntnis neuroanatomischer Strukturen im kleinen Becken – vor allem des autonomen Nervensystems rund um den Plexus hypogastricus inferior (PHI). An Zystoprostatektomiepräparaten erfolgte nach immunhistochemischer Färbung mittels PGP 9.5 die quantitative Beschreibung der Nervenhäufigkeit extramuraler Nervenstrukturen vom Harnblasen-Prostata-Übergang (HPÜ) bis kranial der Samenblasenspitzen, sowie deren Kontextualisierung mit dem Vorhandensein von Samenblasengewebe.

Entlang der Longitudinalachse zeigte sich ein eingipfliger Verlauf der Nervendichte mit Maximum auf Höhe der Samenblasenbasis. Diese Eingipfligkeit spiegelte sich maßgeblich im posterioren Teil des Querschnitts wider. Relevante Anteile des PHI oder dessen Auftreffpunkts an Harnblase und Prostata sind daher auf Höhe der Samenblasenbasis zu vermuten. Es erscheint folglich plausibel, dass auf Höhe der Samenblasenbasis wesentliche Anteile der nach kranial und kaudal verlaufenden perivesikalen bzw. periprostatistischen Nerven im Sinne einer Verteilstruktur zu liegen kommen. Hierbei wurden Nerven mit großem Querschnitt ($>200\mu\text{m}$), welche wahrscheinlich v.a. der Innervation weiter distal gelegener, nach kaudal vor allem kontinenz- und potenzrelevanter Strukturen dienen, nahezu ausschließlich in den lateralen Teilen des Querschnitts erfasst.

Samenblasengewebe wurde mit über 95% fast ausschließlich im posterioren Teil des Querschnitts gefunden. Es zeigte sich ferner eine deutliche Korrelation zwischen Vorhandensein von Samenblasengewebe und hoher Nervendichte. So wurden signifikant mehr Nerven in den samenblasenassoziierten Ebenen 2-4 gezählt. Große Nerven ($>200\mu\text{m}$) wurden dabei fast ausschließlich lateral, sowie

ein relevanter Anteil auch anterolateral der Samenblasen erfasst. Dies verdeutlicht die Relevanz der Samenblasen, welche von einem besonders dichten Netz an Nervenfasern umgeben sind, als anatomische Leitstruktur – besonders auch in Bezug auf nervschonende Operationsansätze.

Die Nervenverteilung nach kranial zeigte eine zunehmende Homogenisierung der Nervendichte entlang der Zirkumferenz. Dies deutet auf einen diffusen Beitrag der kranialen perivesikalen Nerven zur Detrusorinnervation hin.

In kaudaler Richtung am HPÜ befand sich, in Kontinuität zu Untersuchungen periprostatischer Nerven, ein großer Anteil (39%) der erfassten Nerven im auch anterioren Teil des Querschnitts. Die Daten stellen somit die klassische Annahme eines, im Wesentlichen die Nerven für die Kontinenz- und erektile Funktion enthaltenden, streng posterolateral verlaufenden Neurovaskulären Bündels weiter in Frage. Vielmehr ist im Kontext der bestehenden Literatur damit zu rechnen, dass neben der posterolateralen Hauptlokalisation, wesentliche Anteile kontinenz- und potenzrelevanter Nerven im Bereich des HPÜ auch im anterioren Teil der Zirkumferenz auftreten. Eine erweiterte anteriore Nervschonung bei Zystektomien, mit dem Ziel eines größtmöglichen postoperativen Erhalts der Kontinenz- und Sexualfunktion, erscheint daher im kaudalen Teil der Harnblase und am HPÜ – sofern onkologisch vertretbar – besonders relevant. Ferner sollte auf eine sorgfältige Präparation im Bereich der Samenblasen geachtet werden.

III. Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1: Laterale Ansicht der Neuroanatomie und Lagebeziehungen im kleinen Becken. Bl=Harnblase; Inf. vesical pedicle=unterer Gefäßstiel; Hypogastric n.=Nervus Hypogastricus; Neurovascular bundle=Neurovaskuläres Bündel; Pelvic plexus=Plexus hypogastricus inferior; Pelvic diaphragma=Beckenboden, Prostate=Prostata; Seminal vesicle=Samenblase; Sup. vesical pedicle=oberer Gefäßstiel; Ur=Ureter; Vas=Ductus Deferens (aus: Schlegel and Walsh, 1987)..... 16
- Abbildung 2: Aufarbeitungsschritte der Zystatoprostektomiepräparate. A: unfixiertes Präparat von posterior; B: formaldehyd-fixiertes, sowie getuschtes Präparat von anterior-kaudal; C: zugeschnittene Organlamellen; D: Organlamellen - sofern notwendig sagittal getrennt - und zugehörige Gewebereinbettkassetten..... 25
- Abbildung 3: Beispiel der Ebenfixation einer Organlamellen in Gewebereinbettkassetten mit Metallochblech und Distanzelement, sowie Präparatnummer. 27
- Abbildung 4: Immunhistochemische Histologie des HPÜ: Nervenfärbung mit PGP 9.5 (zinnberrot). Grün=Prostataparenchym, gelb=Prostatapropria, c=periprostatitisches Gewebe, Pfeil=PGP 9.5 gefärbte Nerven. 12,5x Vergrößerung (Maßstab: 2mm). Ebene 1, anterolateral, Schale A 32
- Abbildung 5: Übersichtsdarstellung eines exemplarischen Großflächenschnittes der Harnblase auf Höhe Ebene 4 zu unterschiedlichen Bearbeitungszeitpunkten. A: Paraffinblock; B: HE-Färbung (gestrichelte Linie = idealisierte laterale Abgrenzung der Tunica muscularis); C: PGP 9.5-Färbung miteingezeichnetem Auswertungsraster (* exemplarische Auszählereinheit, gestrichelte Linie = idealisierte laterale

- Abgrenzung der Tunica muscularis); D: PGP 9.5-Färbung mit erheblichen Gewebeschäden entstanden im Rahmen des immunhistochemischen Färbeprozesses (nicht auswerbar)..... 33
- Abbildung 6: Schematische Darstellung eines Zystatoprostatektomiepräparats, von dorsal mit den 5 definierten Ebenen. Ebene 1 = HPÜ; Ebenen 2 = kaudales Ende Samenblasen (#Samenblasenbasis); Ebene 3 = Mitte Samenblasen; Ebene 4 = kraniales Ende Samenblasen (* Samenblasenspitze); Ebene 5 = 1cm kranial d. Samenblasen. 34
- Abbildung 7: Schematische Darstellung eines Zystatoprostatektomiepräparats von lateral mit den 5 definierten Ebenen. Ebene 1 = HPÜ; Ebenen 2 = kaudales Ende Samenblasen; Ebene 3 = Mitte Samenblasen; Ebene 4 = kraniales Ende Samenblasen; Ebene 5 = 1cm kranial Samenblasen, * Samenblasenspitze, #Samenblasenbasis..... 35
- Abbildung 8: Darstellung des verwendeten Auswertungsbogen im Sinne eines schematischen Querschnitts mit Unterteilung in Radiärsegmente und Schalen. 37
- Abbildung 9: Immunhistochemische Histologie der Tunica muscularis der Harnblase mit perivesikalem Fettgewebe: Nervenfärbung mit PGP 9.5 (zinnoberrot). a=Tunica muscularis, b=perivesikales Fettgewebe, c=PGP 9.5 angefärbte Nerven, d=Blutgefäß, e=Filzstiftraster. 12,5x Vergrößerung (Maßstab: 2mm). Ebene 3, posterolateral. 45
- Abbildung 10: Übersichtsdarstellung immunhistochemischer Histologien der paravesikaler Nerven: Nervenfärbung mit PGP 9.5 (zinnoberrot). a=perivesikales Fettgewebe, b=Nerven >200µm, c=Nerven <200µm, d=Blutgefäße, e=Samenblase. A: Vergrößerung 200x (Maßstab 200µm); B: Vergrößerung 100x (Maßstab 200µm); C: Vergrößerung 100x (Maßstab 200µm)..... 46

Abbildung 11: Darstellung der durchschnittlichen Anzahl PGP 9.5 gefärbter Nerven <200µm pro Auswertungseinheit (Nervendichte) differenziert nach Ebenen. Die Fehlerindikatoren entsprechen dem 90%-Konfidenzintervall.	49
Abbildung 12: Darstellung der durchschnittlichen Anzahl PGP 9.5 gefärbter Nerven >200µm pro Auswertungseinheit (Nervendichte) differenziert nach Ebenen. Die Fehlerindikatoren entsprechen dem 90%-Konfidenzintervall.	50
Abbildung 13: Darstellung der durchschnittlichen Anzahl PGP 9.5 gefärbter Nerven <200µm pro Auswertungseinheit (Nervendichte) differenziert nach Auswertungssegmenten. Die Fehlerindikatoren entsprechen dem 90%-Konfidenzintervall.....	51
Abbildung 14: Darstellung der durchschnittlichen Anzahl PGP 9.5 gefärbter Nerven >200µm pro Auswertungseinheit (Nervendichte) differenziert nach Auswertungssegmenten. Die Fehlerindikatoren entsprechen dem 90%-Konfidenzintervall.....	52
Abbildung 15: Darstellung der durchschnittlichen Anzahl PGP 9.5 gefärbter Nerven <200µm pro Auswertungseinheit (Nervendichte) differenziert nach Ebenen und Auswertungssegmenten. Die Fehlerindikatoren entsprechen dem 90%-Konfidenzintervall....	54
Abbildung 16: Darstellung der durchschnittlichen Anzahl PGP 9.5 gefärbter Nerven >200µm je Auszähleinheit (Nervendichte) differenziert nach Ebenen und Auswertungssegmenten. Die Fehlerindikatoren entsprechen dem 90%-Konfidenzintervall....	56
Abbildung 17: Darstellung der durchschnittlichen Anzahl PGP 9.5 gefärbter Nerven </> 200µm je Auszähleinheit (Nervendichte) differenziert nach Ebenen und Auswertungssegmenten. Farbliche Visualisierung der Nervendichte von Dunkelrot = geringe Nervendichte bis Dunkelgrün = hohe Nervendichte, sowie tabellarische Auflistung der absoluten Zahlenwerte, E=Ebene, * Samenblasenspitze, # Samenblasenbasis	58

Abbildung 18: Darstellung der durchschnittlichen Anzahl PGP 9.5 gefärbter Nerven <200µm je Auszähleinheit (Nervendichte) in Schale A (0-5mm) differenziert nach Ebenen und Auswertungssegmenten. Die Fehlerindikatoren entsprechen dem 90%-Konfidenzintervall. 59

Abbildung 19: Darstellung der durchschnittlichen Nervenanzahl PGP 9.5 gefärbter Nerven >200µm je Auszähleinheit (Nervendichte) in Schale A (0-5mm) differenziert nach Ebenen und Auswertungssegmenten. Die Fehlerindikatoren entsprechen dem 90%-Konfidenzintervall. 62

Abbildung 20: Darstellung der durchschnittlichen Anzahl PGP 9.5 gefärbter Nerven <200µm je Auszähleinheit (Nervendichte) in Schale B (5-10mm) differenziert nach Ebenen und Auswertungssegmenten. Die Fehlerindikatoren entsprechen dem 90%-Konfidenzintervall. 64

Abbildung 21: Darstellung der durchschnittlichen Anzahl PGP 9.5 gefärbter Nerven >200µm je Auszähleinheit (Nervendichte) in Schale B (5-10mm) differenziert nach Ebenen und Auswertungssegmenten. Die Fehlerindikatoren entsprechen dem 90%-Konfidenzintervall. 66

Abbildung 22: Darstellung der durchschnittlichen Anzahl PGP 9.5 gefärbter Nerven <200µm je Auszähleinheit (Nervendichte) in Schale C (10-20mm) differenziert nach Ebenen und Auswertungssegmenten. Die Fehlerindikatoren entsprechen dem 90%-Konfidenzintervall. 67

Abbildung 23: Darstellung der durchschnittlichen Anzahl PGP 9.5 gefärbter Nerven >200µm je Auszähleinheit (Nervendichte) in Schale C' (10-20mm) differenziert nach Ebenen und Auswertungssegmenten. Die Fehlerindikatoren entsprechen dem 90%-Konfidenzintervall. 69

- Abbildung 24: Graphische Darstellung der Verteilung der Gesamtnervenanzahl (Nerven $\leq 200\mu\text{m}$) je Auszähleinheit G (Gesamtnervendichte) je Auszähleinheit als Histogramm differenziert nach Ebenen. 70
- Abbildung 25: Graphische Darstellung der Verteilung der Gesamtnervenanzahl G (Nerven $\leq 200\mu\text{m}$) je Auszähleinheit (Gesamtnervendichte) ohne vorhandenes Samenblasengewebe als Histogramm differenziert nach den samenblasenassoziierten Ebenen 2-4. . 73
- Abbildung 26: Graphische Darstellung der Verteilung der Gesamtnervenanzahl G (Nerven $> 200\mu\text{m}$) je Auszähleinheit (Gesamtnervendichte) mit vorhandenem Samenblasengewebe als Histogramm differenziert nach den samenblasenassoziierten Ebenen 2-4. . 73
- Abbildung 27: Verteilung der samenblasengewebeenthaltenden Auszähleinheiten nach Ebenen und Auswertungssegmenten. . 76
- Abbildung 28: Gegenüberstellung der Verteilung von relativem Anteil der Auszähleinheiten mit Samenblasengewebe und relativem Anteil der Gesamtnervenanzahl (Nerven $\leq 200\mu\text{m}$) je Auszähleinheit (Gesamtnervendichte) differenziert nach Ebenen. a) anterior, b) anterolateral, c) posterolateral, d) posterior 77
- Abbildung 29: Graphische Darstellung des Anteils der durch das Vorkommen von Samenblasengewebe erklärbaren Variation der Nervenanzahl in Form von Eta-Quadrat η^2 78
- Abbildung 30: Schematischer sagittaler Harnblasenanschnitt: Darstellung möglicher paravesikaler Nervenfaserverläufe. PHI=Plexus hypogastricus inferior; SB=Samenblasen; U=Ureter; VD=Vas deferens; kleine Pfeile entsprechen abgehenden Nervenendästen 88
- Abbildung 31: Darstellung der durchschnittlichen Anzahl PGP 9.5 gefärbter Nerven $\leq 200\mu\text{m}$ je Auszähleinheit (Nervendichte) differenziert nach Ebenen und Auswertungssegmenten. Farbliche Visualisierung der Nervendichte von Dunkelrot = geringe

Nervendichte bis Dunkelgrün = hohe Nervendichte, sowie
tabellarische Auflistung der absoluten Zahlenwerte, E=Ebene101

IV. Tabellen

Tabelle 1:	Laborgeräte (Hersteller ohne Landesangabe in Deutschland).....	21
Tabelle 2:	Laborverbrauchsmaterial (Hersteller ohne Landesangabe in Deutschland)	21
Tabelle 3:	Kommerzielle Reagenzien und Medien (Hersteller ohne Landesangabe in Deutschland).....	22
Tabelle 4:	Charakterisierung des in dieser Arbeit untersuchten Patientenkollektivs nach Alter, Geschlecht, OP-Indikation, OP-Datum, Anzahl geonnener Lamellen, Anzahl untersuchter Ebenen, Anzahl untersuchter Auszähleinheiten	24
Tabelle 5:	Stichprobengröße je Auswertungseinheit. Rot hinterlegte Felder wurden aufgrund zu geringer Stichprobengröße nicht in der Auswertung berücksichtigt.	44
Tabelle 6:	Durchschnittliche absolute Anzahl PGP 9.5 gefärbter Nerven <200µm pro Auszähleinheit (Nervendichte) und zugehöriger Standardfehler des Mittelwertes differenziert nach Ebenen, Auswertungs-segmenten und Schalen. Farbliche Visualisierung der Nervendichte von Dunkelrot = geringe Nervendichte bis Dunkelgrün = hohe Nerven-dichte. SEM = Standardfehler des Mittelwerts.	47
Tabelle 7:	Durchschnittliche absolute Anzahl PGP 9.5 gefärbter Nerven >200µm pro Auszähleinheit (Nervendichte) und zugehöriger Standardfehler des Mittelwertes je Auswertungseinheit differenziert nach Ebenen, Auswertungs-segmenten und Schalen. Farbliche Visualisierung der Nervendichte von Dunkelrot = geringe Nervendichte bis Dunkelgrün = hohe Nerven-dichte. SEM = Standardfehler des Mittelwerts.....	48
Tabelle 8:	Lage- und Streuungsparameter der Gesamtnervenanzahl G (Nerven </>200µm) je Auszähleinheit (Gesamtnervendichte) differenziert nach Ebenen.	70

- Tabelle 9: Lage- und Streuungsparameter der Gesamtnervenanzahl G (Nerven $\leq 200\mu\text{m}$) je Auszähleinheit gesondert für Auszähleinheiten mit (G_SB) und ohne (G_noSB) vorhandenes Samenblasengewebe differenziert nach Ebenen..... 72
- Tabelle 10: Gegenüberstellung der Verteilung von relativem Anteil der Auszähleinheiten mit Samenblasengewebe und relativem Anteil der Gesamtnervenanzahl je Auszähleinheit (Gesamtnervendichte). Nach Ebenen und Auswertungssegmenten differenzierte Darstellung. Dunkel hinterlegte Felder: absolute und relative Häufigkeitsverteilung der samenblasengewebeenthaltenden Präparate. hell hinterlegte Felder: relativer Anteil der durchschnittlichen Gesamtnervenanzahl. Nach Ebenen und Auswertungssegmenten differenzierte Darstellung..... 75
- Tabelle 11: Gegenüberstellung der Verteilung von relativem Anteil der Auszähleinheiten mit Samenblasengewebe und relativem Anteil der Gesamtnervenanzahl je Auszähleinheit (Gesamtnervendichte). Dunkel hinterlegte Felder: absolute und relative Häufigkeitsverteilung der samenblasengewebeenthaltenden Präparate. hell hinterlegte Felder: relativer Anteil der durchschnittlichen Gesamtnervenanzahl. Zusammenfassende Darstellung für die Ebenen 1-5, und gesondert für die samenblasenassoziierten Ebenen 2-4, sowie differenziert nach Auswertungssegmenten als auch gruppiert in anterioren und posterioren Teil..... 75

V. Literaturverzeichnis

- Abern, M. R., Owusu, R. A., Anderson, M. R., Rampersaud, E. N. and Inman, B. A. (2013) 'Perioperative Intravesical Chemotherapy in Non-Muscle-Invasive Bladder Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis', *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*, vol. 11, no. 4, pp. 477–484.
- Abol-Enein, H., El-Baz, M., Abd El-Hameed, M. A., Abdel-Latif, M. and Ghoneim, M. A. (2004) 'Lymph node involvement in patients with bladder cancer treated with radical cystectomy: a patho-anatomical study--a single center experience', *The Journal of urology*, vol. 172, 5 Pt 1, pp. 1818–1821.
- Adams, M. A. and Conway, T. L. (2014) 'Eta Squared', in Michalos, A. C. (ed) *Encyclopedia of Quality of Life and Well-Being Research*, Dordrecht, Springer Netherlands, pp. 1965–1966.
- Akita, K., Sakamoto, H. and Sato, T. (2003) 'Origins and courses of the nervous branches to the male urethral sphincter', *Surgical and radiologic anatomy : SRA*, vol. 25, 5-6, pp. 387–392.
- Alloussi, S. H., Lang, C., Eichel, R. and Alloussi, S. (2014) 'Ejaculation-preserving transurethral resection of prostate and bladder neck: short- and long-term results of a new innovative resection technique', *Journal of endourology*, vol. 28, no. 1, pp. 84–89 [Online]. DOI: 10.1089/end.2013.0093 (Accessed 13 March 2021).
- Alsaid, B., Bessede, T., Diallo, D., Moszkowicz, D., Karam, I., Benoit, G. and Droupy, S. (2011) 'Division of autonomic nerves within the neurovascular bundles distally into corpora cavernosa and corpus spongiosum components: Immunohistochemical confirmation with three-dimensional reconstruction', *European urology*, vol. 59, no. 6, pp. 902–909.
- Alsaid, B., Bessede, T., Karam, I., Abd-alsamad, I., Uhl, J.-F., Benoît, G., Droupy, S. and Delmas, V. (2009) 'Coexistence of adrenergic and cholinergic nerves in the inferior hypogastric plexus: anatomical and immunohistochemical study with 3D reconstruction in human male fetus', *Journal of anatomy*, vol. 214, no. 5, pp. 645–654.
- Alsaid, B., Karam, I., Bessede, T., Abdlsamad, I., Uhl, J.-F., Delmas, V., Benoît, G. and Droupy, S. (2010) 'Tridimensional computer-assisted anatomic dissection of posterolateral prostatic neurovascular bundles', *European urology*, vol. 58, no. 2, pp. 281–287.
- Alsaid, B., Moszkowicz, D., Peschaud, F., Bessede, T., Zaitouna, M., Karam, I., Droupy, S. and Benoit, G. (2011) 'Autonomic-somatic communications in the human pelvis: Computer-assisted anatomic dissection in male and female fetuses', *Journal of anatomy*, vol. 219, no. 5, pp. 565–573.

- Amann, K., Kain, R., Klöppel, G. and Remmele, W. (eds) (2016) *Pathologie: Urogenitale und endokrine Organe, Gelenke und Skelett*, Berlin, Heidelberg, Springer.
- Amend, B., Hennenlotter, J., Kuehs, U., Laible, I., Anastasiadis, A., Schilling, D., Stenzl, A. and Sievert, K.-D. (2013) 'Prostatic peripheral nerve distribution may impact the functional outcome of nerve-sparing prostatectomy', *World journal of urology*, vol. 31, no. 2, pp. 377–382.
- Amend, B. and Stenzl, A. (2011) 'Gross and Laparoscopic Anatomy of the Lower Urinary Tract and Pelvis', in Chapple, C. R. and Steers, W. D. (eds) *Practical Urology: Essential Principles and Practice*, London, Springer London, pp. 43–55.
- Andreassen, B. K., Grimsrud, T. K. and Haug, E. S. (2018) 'Bladder cancer survival: Women better off in the long run', *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)*, vol. 95, pp. 52–58.
- Asimakopoulos, A. D., Campagna, A., Gakis, G., Corona Montes, V. E., Piechaud, T., Hoepffner, J.-L., Mugnier, C. and Gaston, R. (2016) 'Nerve Sparing, Robot-Assisted Radical Cystectomy with Intracorporeal Bladder Substitution in the Male', *The Journal of urology*, vol. 196, no. 5, pp. 1549–1557.
- Augustine, A., Hebert, J. R., Kabat, G. C. and Wynder, E. L. (1988) 'Bladder cancer in relation to cigarette smoking', *Cancer research*, vol. 48, no. 15, pp. 4405–4408.
- Baader, B. and Herrmann, M. (2003) 'Topography of the pelvic autonomic nervous system and its potential impact on surgical intervention in the pelvis', *Clinical anatomy (New York, N.Y.)*, vol. 16, no. 2, pp. 119–130.
- Benoit, G., Merlaud, L., Meduri, G., Moukarzel, M., Quillard, J., Ledroux, M., Giuliano, F. and Jardin, A. (1994) 'Anatomy of the prostatic nerves', *Surgical and radiologic anatomy : SRA*, vol. 16, no. 1, pp. 23–29.
- Berg, J. M., Tymoczko, J. L., Gatto, G. J. and Stryer, L. (2018) 'Erforschung der Proteine und Proteome', in Berg, J. M., Tymoczko, J. L., Gatto, G. J. and Stryer, L. (eds) *Stryer Biochemie*, Berlin, Heidelberg, Springer Berlin Heidelberg, pp. 79–126.
- Böhle, A. and Bock, P. R. (2004) 'Intravesical bacille Calmette-Guérin versus mitomycin C in superficial bladder cancer: formal meta-analysis of comparative studies on tumor progression', *Urology*, vol. 63, no. 4, 682-6; discussion 686-7.
- Boström, P. J., Alkhateeb, S., van Rhijn, B. W. G., Kuk, C. and Zlotta, A. R. (2010) 'Optimal timing of radical cystectomy in T1 high-grade bladder cancer', *Expert review of anticancer therapy*, vol. 10, no. 12, pp. 1891–1902.

- Brendler, C. B., Steinberg, G. D., Marshall, F. F., Mostwin, J. L. and Walsh, P. C. (1990) 'Local Recurrence and Survival Following Nerve-Sparing Radical Cystoprostatectomy', *journal of urology*, vol. 144, no. 5, pp. 1137–1140.
- Brennan, P., Bogillot, O., Cordier, S., Greiser, E., Schill, W., Vineis, P., Lopez-Abente, G., Tzonou, A., Chang-Claude, J., Bolm-Audorff, U., Jöckel, K. H., Donato, F., Serra, C., Wahrendorf, J., Hours, M., T'Mannetje, A., Kogevinas, M. and Boffetta, P. (2000) 'Cigarette smoking and bladder cancer in men: A pooled analysis of 11 case-control studies', *International journal of cancer*, vol. 86, no. 2, pp. 289–294.
- Burger, M., Catto, J. W. F., Dalbagni, G., Grossman, H. B., Herr, H., Karakiewicz, P., Kassouf, W., Kiemene, L. A., La Vecchia, C., Shariat, S. and Lotan, Y. (2013) 'Epidemiology and risk factors of urothelial bladder cancer', *European urology*, vol. 63, no. 2, pp. 234–241.
- Burnett, A. L., Tillman, S. L., Chang, T. S., Epstein, J. I., Lowenstein, C. J., Bredt, D. S., Snyder, S. H. and Walsh, P. C. (1993) 'Immunohistochemical Localization of Nitric Oxide Synthase in the Autonomic Innervation of the Human Penis', *The Journal of urology*, vol. 150, no. 1, pp. 73–76.
- Butler-Manuel, S. (2002) 'Pelvic nerve plexus trauma at radical and simple hysterectomy: a quantitative study of nerve types in the uterine supporting ligaments', *Journal of the Society for Gynecologic Investigation*, vol. 9, no. 1, pp. 47–56 [Online]. DOI: 10.1016/s1071-5576(01)00145-9.
- Butz, M. (ed) (2012) *Dokumentation des Berufskrankheiten-Geschehens in Deutschland: Beruflich verursachte Krebserkrankungen; eine Darstellung der im Zeitraum 1978 bis 2010 anerkannten Berufskrankheiten*, 10th edn, Berlin, Deutsche Gesetzliche Unfallversicherung (DGUV).
- Chabert, C. C., Merrilees, D. A., Neill, M. G. and Eden, C. G. (2008) 'Curtain dissection of the lateral prostatic fascia and potency after laparoscopic radical prostatectomy: A veil of mystery', *BJU international*, vol. 101, no. 10, pp. 1285–1288.
- Chernyak, V. (2011) 'Novel imaging modalities for lymph node imaging in urologic oncology', *The Urologic clinics of North America*, vol. 38, no. 4, 471-81, vii.
- Choi, W., Porten, S., Kim, S., Willis, D., Plimack, E. R., Hoffman-Censits, J., Roth, B., Cheng, T., Tran, M., Lee, I.-L., Melquist, J., Bondaruk, J., Majewski, T., Zhang, S., Pretzsch, S., Baggerly, K., Siefker-Radtke, A., Czerniak, B., Dinney, C. P. N. and McConkey, D. J. (2014) 'Identification of distinct basal and luminal subtypes of muscle-invasive bladder cancer with different sensitivities to frontline chemotherapy', *Cancer cell*, vol. 25, no. 2, pp. 152–165.
- Clifford, T. G., Shah, S. H., Bazargani, S. T., Miranda, G., Cai, J., Wayne, K., Djaladat, H., Schuckman, A. K. and Daneshmand, S. (2016) 'Prospective

- Evaluation of Continence Following Radical Cystectomy and Orthotopic Urinary Diversion Using a Validated Questionnaire', *The Journal of urology*, vol. 196, no. 6, pp. 1685–1691.
- Costello, A. J., Brooks, M. and Cole, O. J. (2004) 'Anatomical studies of the neurovascular bundle and cavernosal nerves', *BJU international*, vol. 94, no. 7, pp. 1071–1076.
- Costello, A. J., Dowdle, B. W., Namdarian, B., Pedersen, J. and Murphy, D. G. (2011) 'Immunohistochemical study of the cavernous nerves in the periprostatic region', *BJU international*, vol. 107, no. 8, pp. 1210–1215.
- Danielson, P., Alfredson, H. and Forsgren, S. (2006) 'Distribution of general (PGP 9.5) and sensory (substance P/CGRP) innervations in the human patellar tendon', *Knee surgery, sports traumatology, arthroscopy : official journal of the ESSKA*, vol. 14, no. 2, pp. 125–132 [Online]. DOI: 10.1007/s00167-005-0636-7.
- Daniltchenko, D. I., Riedl, C. R., Sachs, M. D., Koenig, F., Daha, K. L., Pflueger, H., Loening, S. A. and Schnorr, D. (2005) 'Long-term benefit of 5-aminolevulinic acid fluorescence assisted transurethral resection of superficial bladder cancer: 5-year results of a prospective randomized study', *The Journal of urology*, vol. 174, no. 6, 2129-33, discussion 2133.
- Del Giudice, F., Barchetti, G., Berardinis, E. de, Pecoraro, M., Salvo, V., Simone, G., Sciarra, A., Leonardo, C., Gallucci, M., Catalano, C., Catto, J. W. F. and Panebianco, V. (2020) 'Prospective Assessment of Vesical Imaging Reporting and Data System (VI-RADS) and Its Clinical Impact on the Management of High-risk Non-muscle-invasive Bladder Cancer Patients Candidate for Repeated Transurethral Resection', *European urology*, vol. 77, no. 1, pp. 101–109.
- Denzinger, S., Fritsche, H.-M., Otto, W., Blana, A., Wieland, W.-F. and Burger, M. (2008) 'Early versus deferred cystectomy for initial high-risk pT1G3 urothelial carcinoma of the bladder: do risk factors define feasibility of bladder-sparing approach?', *European urology*, vol. 53, no. 1, pp. 146–152.
- Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe, AWMF (Leitlinienprogramm Onkologie) (ed) (2020) *S3-Leitlinie Früherkennung, Diagnose, Therapie und Nachsorge des Harnblasenkarzinoms, Langversion 2.0* [Online] (AWMF-Registrierungsnummer 032/038OL). Available at <https://www.leitlinienprogramm-onkologie.de/leitlinien/harnblasenkarzinom/> (Accessed 12 February 2021).
- Duchek, M., Johansson, R., Jahnson, S., Mestad, O., Hellström, P., Hellsten, S. and Malmström, P.-U. (2010) 'Bacillus Calmette-Guérin is superior to a combination of epirubicin and interferon-alpha2b in the intravesical treatment of patients with stage T1 urinary bladder cancer. A prospective, randomized, Nordic study', *European urology*, vol. 57, no. 1, pp. 25–31.

- Edwards, T. J., Dickinson, A. J., Natale, S., Gosling, J. and McGrath, J. S. (2006) 'A prospective analysis of the diagnostic yield resulting from the attendance of 4020 patients at a protocol-driven haematuria clinic', *BJU international*, vol. 97, no. 2, 301-5; discussion 305.
- Eichelberg, C., Erbersdobler, A., Michl, U., Schlomm, T., Salomon, G., Graefen, M. and Huland, H. (2007) 'Nerve Distribution along the Prostatic Capsule', *European urology*, vol. 51, no. 1, pp. 105–111.
- El-Badawi, A. and Schenk, E. A. (1966) 'Dual innervation of the mammalian urinary bladder. A histochemical study of the distribution of cholinergic and adrenergic nerves', *The American journal of anatomy*, vol. 119, no. 3, pp. 405–427.
- Ficarra, V., Dalpiaz, O., Alrabi, N., Novara, G., Galfano, A. and Artibani, W. (2005) 'Correlation between clinical and pathological staging in a series of radical cystectomies for bladder carcinoma', *BJU international*, vol. 95, no. 6, pp. 786–790.
- Filbeck, T., Pichlmeier, U., Knuechel, R., Wieland, W. and Roessler, W. (2002) 'Do patients profit from 5-aminolevulinic acid-induced fluorescence diagnosis in transurethral resection of bladder carcinoma?', *Urology*, vol. 60, no. 6, pp. 1025–1028.
- Fowler, C. J., Griffiths, D. and Groat, W. C. de (2008) 'The neural control of micturition', *Nature reviews. Neuroscience*, vol. 9, no. 6, pp. 453–466.
- Fritsche, H.-M., Burger, M., Svatek, R. S., Jeldres, C., Karakiewicz, P. I., Novara, G., Skinner, E., Denzinger, S., Fradet, Y., Isbarn, H., Bastian, P. J., Volkmer, B. G., Montorsi, F., Kassouf, W., Tilki, D., Otto, W., Capitanio, U., Izawa, J. I., Ficarra, V., Lerner, S., Sagalowsky, A. I., Schoenberg, M., Kamat, A., Dinney, C. P., Lotan, Y. and Shariat, S. F. (2010) 'Characteristics and outcomes of patients with clinical T1 grade 3 urothelial carcinoma treated with radical cystectomy: results from an international cohort', *European urology*, vol. 57, no. 2, pp. 300–309.
- Furrer, M. A., Roth, B., Kiss, B., Nguyen, D. P., Boxler, S., Burkhard, F. C., Thalmann, G. N. and Studer, U. E. (2016) 'Patients with an Orthotopic Low Pressure Bladder Substitute Enjoy Long-Term Good Function', *The Journal of urology*, vol. 196, no. 4, pp. 1172–1180.
- Furrer, M. A., Studer, U. E., Gross, T., Burkhard, F. C., Thalmann, G. N. and Nguyen, D. P. (2018) 'Nerve-sparing radical cystectomy has a beneficial impact on urinary continence after orthotopic bladder substitution, which becomes even more apparent over time', *BJU international*, vol. 121, no. 6, pp. 935–944.
- Ganzer, R., Blana, A., Gaumann, A., Stolzenburg, J.-U., Rabenalt, R., Bach, T., Wieland, W. F. and Denzinger, S. (2008a) 'Topographical anatomy of

- periprostatic and capsular nerves: Quantification and computerised planimetry', *European urology*, vol. 54, no. 2, pp. 353–360.
- Ganzer, R., Blana, A., Gaumann, A., Stolzenburg, J.-U., Rabenalt, R., Bach, T., Wieland, W. F. and Denzinger, S. (2008b) 'Topographical anatomy of periprostatic and capsular nerves: Quantification and computerised planimetry', *European urology*, vol. 54, no. 2, pp. 353–360.
- Ganzer, R., Stolzenburg, J.-U., Wieland, W. F. and Bründl, J. (2012) 'Anatomic study of periprostatic nerve distribution: Immunohistochemical differentiation of parasympathetic and sympathetic nerve fibres', *European urology*, vol. 62, no. 6, pp. 1150–1156.
- Gosling, J. A. and Dixon, J. S. (1974) 'Sensory nerves in the mammalian urinary tract. An evaluation using light and electron microscopy', *Journal of anatomy*, vol. 117, Pt 1, pp. 133–144 [Online]. Available at <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4844655>.
- Gravas S., Cornu, J.N., Gacci, M., Gratzke, C., Herrmann, T., Mamoulakis, C., Rieken, M., Speakman, M. J. and Tikkinen, K. (2020) 'EAU Guidelines on Non Neurogenic Male LUTS incl. BPO: EAU Guidelines. Edn. presented at the EAU Annual Congress Amsterdam 2020. ISBN 978-94-92671-07-3' [Online]. Available at <https://uroweb.org/wp-content/uploads/EAU-Guidelines-on-Non-Neurogenic-Male-LUTS-incl.-BPO-2020.pdf> (Accessed 13 March 2021).
- Grigorescu, B. A., Lazarou, G., Olson, T. R., Downie, S. A., Powers, K., Greston, W. M. and Mikhail, M. S. (2008) 'Innervation of the levator ani muscles: Description of the nerve branches to the pubococcygeus, iliococcygeus, and puborectalis muscles', *International urogynecology journal and pelvic floor dysfunction*, vol. 19, no. 1, pp. 107–116.
- Gschwend, J. E., Heck, M. M., Lehmann, J., Rübber, H., Albers, P., Wolff, J. M., Frohneberg, D., Geeter, P. de, Heidenreich, A., Kälble, T., Stöckle, M., Schnöller, T., Stenzl, A., Müller, M., Truss, M., Roth, S., Liehr, U.-B., Leißner, J., Bregenzner, T. and Retz, M. (2019) 'Extended Versus Limited Lymph Node Dissection in Bladder Cancer Patients Undergoing Radical Cystectomy: Survival Results from a Prospective, Randomized Trial', *European urology*, vol. 75, no. 4, pp. 604–611.
- Gulbenkian, S., Wharton, J. and Polak, J. M. (1987) 'The visualisation of cardiovascular innervation in the guinea pig using antiserum to protein gene product 9.5 (pgp 9.5)', *Journal of the Autonomic Nervous System*, vol. 18, no. 3, pp. 235–247.
- Hara, S., Miyake, H., Fujisawa, M., Okada, H., Arakawa, S., Kamidono, S. and Hara, I. (2001) 'Prognostic variables in patients who have undergone radical cystectomy for transitional cell carcinoma of the bladder', *Japanese journal of clinical oncology*, vol. 31, no. 8, pp. 399–402.

- Herr, H. W. (1999) 'The value of a second transurethral resection in evaluating patients with bladder tumors', *The Journal of urology*, vol. 162, no. 1, pp. 74–76.
- Herr, H. W. and Sogani, P. C. (2001) 'Does early cystectomy improve the survival of patients with high risk superficial bladder tumors?', *The Journal of urology*, vol. 166, no. 4, pp. 1296–1299.
- Hollabaugh, R. S., Dmochowski, R. R., Kneib, T. G. and Steiner, M. S. (1998) 'Preservation of Putative Continence Nerves during Radical Retropubic Prostatectomy Leads to More Rapid Return of Urinary Continence', *Urology*, vol. 51, no. 6, pp. 960–967.
- Hollabaugh, R. S., Dmochowski, R. R. and Steiner, M. S. (1997) 'Neuroanatomy of the male rhabdosphincter', *Urology*, vol. 49, no. 3, pp. 426–434.
- Hugonnet, C. L., Danuser, H., Springer, J. P. and Studer, U. E. (1999) 'Decreased sensitivity in the membranous urethra after orthotopic ileal bladder substitute', *The Journal of urology*, vol. 161, no. 2, pp. 418–421.
- Hugonnet, C. L., Danuser, H., Springer, J. P. and STUDER, U. E. (2001) 'Urethral sensitivity and the impact on urinary continence in patients with an ileal bladder substitute after cystectomy', *journal of urology*, vol. 165, no. 5, pp. 1502–1505.
- Humphrey, P. A., Moch, H., Cubilla, A. L., Ulbright, T. M. and Reuter, V. E. (2016) 'The 2016 WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs-Part B: Prostate and Bladder Tumours', *European urology*, vol. 70, no. 1, pp. 106–119.
- Jacobs, B. L., Daignault, S., Lee, C. T., Hafez, K. S., Montgomery, J. S., Montie, J. E., Humrich, J. E., Hollenbeck, B. K., Wood, D. P. and Weizer, A. Z. (2015) 'Prostate capsule sparing versus nerve sparing radical cystectomy for bladder cancer: Results of a randomized, controlled trial', *The Journal of urology*, vol. 193, no. 1, pp. 64–70.
- Jannini, E. A., Simonelli, C. and Lenzi, A. (2002) 'Disorders of ejaculation', *Journal of endocrinological investigation*, vol. 25, no. 11, pp. 1006–1019.
- Jeurissen, B., Descoteaux, M., Mori, S. and Leemans, A. (2019) 'Diffusion MRI fiber tractography of the brain', *NMR in biomedicine*, vol. 32, no. 4, e3785.
- Jones, R., Latinovic, R., Charlton, J. and Gulliford, M. C. (2007) 'Alarm symptoms in early diagnosis of cancer in primary care: cohort study using General Practice Research Database', *BMJ (Clinical research ed.)*, vol. 334, no. 7602, p. 1040.
- Kaiho, Y., Nakagawa, H., Saito, H., Ito, A., Ishidoya, S., Saito, S. and Arai, Y. (2009) 'Nerves at the ventral prostatic capsule contribute to erectile function:

- Initial electrophysiological assessment in humans', *European urology*, vol. 55, no. 1, pp. 148–154.
- Kaul, S., Savera, A., Badani, K., Fumo, M., Bhandari, A. and Menon, M. (2006) 'Functional outcomes and oncological efficacy of Vattikuti Institute prostatectomy with Veil of Aphrodite nerve-sparing: An analysis of 154 consecutive patients', *BJU international*, vol. 97, no. 3, pp. 467–472.
- Kessler, T. M., Burkhard, F. C. and Studer, U. E. (2005) 'Clinical indications and outcomes with nerve-sparing cystectomy in patients with bladder cancer', *The Urologic clinics of North America*, vol. 32, no. 2, pp. 165–175.
- Kihara, K., Sato, K. and Oshima, H. (1998) 'Sympathetic efferent pathways projecting to the vas deferens', *Microscopy research and technique*, vol. 42, no. 6, pp. 398–408.
- Kiyoshima, K., Yokomizo, A., Yoshida, T., Tomita, K., Yonemasu, H., Nakamura, M., Oda, Y., Naito, S. and Hasegawa, Y. (2004) 'Anatomical features of periprostatic tissue and its surroundings: A histological analysis of 79 radical retropubic prostatectomy specimens', *Japanese journal of clinical oncology*, vol. 34, no. 8, pp. 463–468.
- Klän, R., Loy, V. and Huland, H. (1991) 'Residual Tumor Discovered in Routine Second Transurethral Resection in Patients with Stage T1 Transitional Cell Carcinoma of the Bladder', *The Journal of urology*, vol. 146, no. 2, pp. 316–318.
- KleinJan, G. H., Sikorska, K., Korne, C. M., Brouwer, O. R., Buckle, T., Tillier, C., van der Roest, R. C. M., Jong, J. de, van Leeuwen, F. W. B. and van der Poel, H. G. (2019) 'A prediction model relating the extent of intraoperative fascia preservation to erectile dysfunction after nerve-sparing robot-assisted radical prostatectomy', *Journal of robotic surgery*, vol. 13, no. 3, pp. 455–462.
- Köhrmann, K., Woeste, M., Kappes, J., Rassweiler, J. and Alken, P. (1994) 'Der Wert der transurethralen Nachresektion beim oberflächlichen Harnblasenkarzinom', *Aktuelle Urologie*, vol. 25, no. 04, pp. 208–213.
- Kubinger, K. D., Rasch, D. and Moder, K. (2009) 'Zur Legende der Voraussetzungen des t-Tests für unabhängige Stichproben', *Psychologische Rundschau*, vol. 60, no. 1, pp. 26–27.
- Kwon, T., Jeong, I. G., You, D., Hong, B., Hong, J. H., Ahn, H. and Kim, C.-S. (2014) 'Long-term oncologic outcomes after radical cystectomy for bladder cancer at a single institution', *Journal of Korean medical science*, vol. 29, no. 5, pp. 669–675.
- Lang, G. (2013) *Histotechnik: Praxislehrbuch für die biomedizinische Analytik* [Online], Vienna, Springer. Available at <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-7091-1190-1>.

- Leissner, J., Allhoff, E. P., Wolff, W., Feja, C., Höckel, M., Black, P. and Hohenfellner, R. (2001) 'The pelvic plexus and antireflux surgery: Topographical findings and clinical consequences', *The Journal of urology*, vol. 165, no. 5, pp. 1652–1655.
- Liao, J., Zhang, X., Chen, M., Li, D., Tan, X., Gu, J., Hu, S. and Chen, X. (2019) 'Transurethral resection of the prostate with preservation of the bladder neck decreases postoperative retrograde ejaculation', *Wideochirurgia i inne techniki maloinwazyjne = Videosurgery and other miniinvasive techniques*, vol. 14, no. 1, pp. 96–101.
- Lin-Brandt, M., Nazemi, A., Pearce, S. M., Thompson, E. R., Ashrafi, A. N., Djaladat, H., Schuckman, A. and Daneshmand, S. (2019) 'Assessing trends in urinary diversion after radical cystectomy for bladder cancer in the United States', *Urologic oncology*, vol. 37, no. 3, 180.e1-180.e9.
- Liu, B., Wang, Z., Chen, B., Yu, J., Zhang, P., Ding, Q. and Zhang, Y. (2006) 'Randomized study of single instillation of epirubicin for superficial bladder carcinoma: long-term clinical outcomes', *Cancer investigation*, vol. 24, no. 2, pp. 160–163.
- Lopez-Beltran, A. and Cheng, L. (2006) 'Histologic variants of urothelial carcinoma: Differential diagnosis and clinical implications', *Human pathology*, vol. 37, no. 11, pp. 1371–1388.
- Lue, T. F., Zeineh, S. J., Schmidt, R. A. and Tanagho, E. A. (1984) 'Neuroanatomy of Penile Erection: Its Relevance to Iatrogenic Impotence', *Journal of urology*, vol. 131, no. 2, pp. 273–280.
- Lunacek, A., Schwentner, C., Fritsch, H., Bartsch, G. and Strasser, H. (2005) 'Anatomical radical retropubic prostatectomy: 'curtain dissection' of the neurovascular bundle', *BJU international*, vol. 95, no. 9, pp. 1226–1231.
- Madersbacher, S., Hochreiter, W. and Studer, U. E. (2004) 'Tipps und Tricks der nerverhaltenden Zystektomie', *Der Urologe. Ausg. A*, vol. 43, no. 2, pp. 151–155.
- Malmström, P.-U., Sylvester, R. J., Crawford, D. E., Friedrich, M., Krege, S., Rintala, E., Solsona, E., Di Stasi, S. M. and Witjes, J. A. (2009) 'An individual patient data meta-analysis of the long-term outcome of randomised studies comparing intravesical mitomycin C versus bacillus Calmette-Guérin for non-muscle-invasive bladder cancer', *European urology*, vol. 56, no. 2, pp. 247–256.
- Mauroy, B., Demondion, X., Drizenko, A., Goulet, E., Bonnal, J.-L., Biserte, J. and Abbou, C. (2003) 'The inferior hypogastric plexus (pelvic plexus): Its importance in neural preservation techniques', *Surgical and radiologic anatomy : SRA*, vol. 25, no. 1, pp. 6–15.

- McDonnell, S. M. (1992) 'Ejaculation: Physiology and Dysfunction', *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, vol. 8, no. 1, pp. 57–70.
- Menon, M., Kaul, S., Bhandari, A., Shrivastava, A., Tewari, A. and Hemal, A. (2005) 'Potency following robotic radical prostatectomy: A questionnaire based analysis of outcomes after conventional nerve sparing and prostatic fascia sparing techniques', *The Journal of urology*, vol. 174, no. 6, 2291-6, discussion 2296.
- Millán-Rodríguez, F., Chéchile-Toniolo, G., Salvador-Bayarri, J., Huguet-Pérez, J. and Vicente-Rodríguez, J. (2000) 'Upper urinary tract tumors after primary superficial bladder tumors: prognostic factors and risk groups', *The Journal of urology*, vol. 164, no. 4, pp. 1183–1187.
- Modh, R. A., Mulhall, J. P. and Gilbert, S. M. (2014) 'Sexual dysfunction after cystectomy and urinary diversion', *Nature reviews. Urology*, vol. 11, no. 8, pp. 445–453.
- Muto, G., Bardari, F., D'Urso, L. and Giona, C. (2004) 'Seminal sparing cystectomy and ileocapsuloplasty: Long-term followup results', *The Journal of urology*, vol. 172, no. 1, pp. 76–80.
- Nielsen, M. E., Schaeffer, E. M., Marschke, P. and Walsh, P. C. (2008) 'High anterior release of the levator fascia improves sexual function following open radical retropubic prostatectomy', *The Journal of urology*, vol. 180, no. 6, 2557-64; discussion 2564.
- (1993) 'NIH Consensus Conference. Impotence. NIH Consensus Development Panel on Impotence', *JAMA*, vol. 270, no. 1, pp. 83–90.
- Nyame, Y. A., Zargar, H., Ramirez, D., Ganesan, V., Babbar, P., Villers, A. and Haber, G.-P. (2016) 'Robotic-assisted Laparoscopic Bilateral Nerve Sparing and Apex Preserving Cystoprostatectomy in Young Men With Bladder Cancer', *Urology*, vol. 94, pp. 259–264.
- O'Donnell, P. D. and Finan, B. F. (1989) 'Continence Following Nerve-Sparing Radical Prostatectomy', *journal of urology*, vol. 142, no. 5, pp. 1227–1228.
- O'Donnell, P. D., Brookover, T., Hewett, M. and Al-Juburi, A. Z. (1990) 'Continence level following radical prostatectomy', *Urology*, vol. 36, no. 6, pp. 511–512.
- Oliver, C. and Jamur, M. C. (2010) 'Immunocytochemical methods and protocols', *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, vol. 588, pp. iv–v.
- Palou, J., Rodríguez-Rubio, F., Huguet, J., Segarra, J., Ribal, M. J., Alcaraz, A. and Villavicencio, H. (2005) 'Multivariate analysis of clinical parameters of synchronous primary superficial bladder cancer and upper urinary tract tumor', *The Journal of urology*, vol. 174, no. 3, 859-61; discussion 861.

- Panebianco, V., Barchetti, F., Haas, R. J. de, Pearson, R. A., Kennish, S. J., Giannarini, G. and Catto, J. W. F. (2016) 'Improving Staging in Bladder Cancer: The Increasing Role of Multiparametric Magnetic Resonance Imaging', *European urology focus*, vol. 2, no. 2, pp. 113–121.
- Paulson, D. F. (1993) 'Critical review of radical cystectomy and indicators of prognosis', *Seminars in urology*, vol. 11, no. 4, pp. 205–213.
- Pecoraro, M., Takeuchi, M., Vargas, H. A., Muglia, V. F., Cipollari, S., Catalano, C. and Panebianco, V. (2020) 'Overview of VI-RADS in Bladder Cancer', *AJR. American journal of roentgenology*, vol. 214, no. 6, pp. 1259–1268.
- Prout, G. R. and Marshall, V. F. (1956) 'The prognosis with untreated bladder tumors', *Cancer*, vol. 9, no. 3, pp. 551–558 [Online]. DOI: 10.1002/1097-0142(195605/06)9:3<551::AID-CNCR2820090319>3.0.CO;2-2.
- Purves, J. T., Spruill, L., Rovner, E., Borisko, E., McCants, A., Mugo, E., Wingard, A., Trusk, T. C., Bacro, T. and Hughes, F. M. (2017) 'A Three Dimensional Nerve Map of Human Bladder Trigone', *Neurourology and urodynamics*, vol. 36, no. 4, pp. 1015–1019.
- Rajesh, A., Sokhi, H., Fung, R., Mulcahy, K. A. and Bankart, M. J. G. (2011) 'Role of whole-body staging computed tomographic scans for detecting distant metastases in patients with bladder cancer', *Journal of computer assisted tomography*, vol. 35, no. 3, pp. 402–405.
- Ramakumar, S., Bhuiyan, J., Besse, J. A., Roberts, S. G., Wollan, P. C., Blute, M. L. and O'Kane, D. J. (1999) 'Comparison of screening methods in the detection of bladder cancer', *The Journal of urology*, vol. 161, no. 2, pp. 388–394.
- Rasch, D., Kubinger, K. D. and Moder, K. (2011) 'The two-sample t test: Pre-testing its assumptions does not pay off', *Statistical Papers*, vol. 52, no. 1, pp. 219–231.
- Rassweiler, J., Teber, D., Kuntz, R. and Hofmann, R. (2006) 'Complications of transurethral resection of the prostate (TURP)--incidence, management, and prevention', *European urology*, vol. 50, no. 5, 969-79; discussion 980.
- Richterstetter, M., Wullich, B., Amann, K., Haeberle, L., Engehausen, D. G., Goebell, P. J. and Krause, F. S. (2012) 'The value of extended transurethral resection of bladder tumour (TURBT) in the treatment of bladder cancer', *BJU international*, vol. 110, 2 Pt 2, E76-9.
- Riede, U.-N. and Werner, M. (2017) *Allgemeine und Spezielle Pathologie*, Berlin, Heidelberg, Springer Berlin Heidelberg.
- Robert-Koch-Institut (2016) 'Bericht zum Krebsgeschehen in Deutschland 2016'.
- Robert-Koch-Institut (2019) 'Krebs in Deutschland | 2015/2016'.

- Ronzoni, G. and Vecchis, M. de (1998) 'Preservation of anterograde ejaculation after transurethral resection of both the prostate and bladder neck', *British journal of urology*, vol. 81, no. 6, pp. 830–833.
- Röthlisberger, R., Aurore, V., Boemke, S., Bangerter, H., Bergmann, M., Thalmann, G. N. and Djonov, V. (2018) 'The anatomy of the male inferior hypogastric plexus: What should we know for nerve sparing surgery', *Clinical anatomy (New York, N.Y.)*, vol. 31, no. 6, pp. 788–796.
- Ruxton, G. D. (2006) 'The unequal variance t-test is an underused alternative to Student's t-test and the Mann–Whitney U test', *Behavioral Ecology*, vol. 17, no. 4, pp. 688–690.
- Schlegel, P. N. and Walsh, P. C. (1987) 'Neuroanatomical Approach to Radical Cystoprostatectomy with Preservation of Sexual Function', *journal of urology*, vol. 138, no. 6, pp. 1402–1406.
- Schraffordt, S. E., Tjandra, J. J., Eizenberg, N. and Dwyer, P. L. (2004) 'Anatomy of the pudendal nerve and its terminal branches: A cadaver study', *ANZ journal of surgery*, vol. 74, 1-2, pp. 23–26.
- Schünke, M., Schulte, E., Schumacher, U., Voll, M. and Wesker, K. (2012) *Innere Organe*, 3rd edn, Stuttgart, Georg Thieme Verlag.
- Schwalenberg, T., Neuhaus, J., Liatsikos, E., Winkler, M., Löffler, S. and Stolzenburg, J.-U. (2010) 'Neuroanatomy of the male pelvis in respect to radical prostatectomy including three-dimensional visualization', *BJU international*, vol. 105, no. 1, pp. 21–27.
- Shariat, S. F., Palapattu, G. S., Karakiewicz, P. I., Rogers, C. G., Vazina, A., Bastian, P. J., Schoenberg, M. P., Lerner, S. P., Sagalowsky, A. I. and Lotan, Y. (2007) 'Discrepancy between clinical and pathologic stage: impact on prognosis after radical cystectomy', *European urology*, vol. 51, no. 1, 137-49; discussion 149-51.
- Shephard, E. A., Stapley, S., Neal, R. D., Rose, P., Walter, F. M. and Hamilton, W. T. (2012) 'Clinical features of bladder cancer in primary care', *The British journal of general practice : the journal of the Royal College of General Practitioners*, vol. 62, no. 602, e598-604.
- Sievert, K.-D., Hennenlotter, J., Dillenburg, T., Toomey, P., Wöllner, J., Zweers, P., Pannek, J., Andersson, K.-E. and Amend, B. (2019) 'Extended periprostatic nerve distributions on the prostate surface confirmed using diffusion tensor imaging', *BJU international*, vol. 123, no. 6, pp. 995–1004.
- Sievert, K.-D., Hennenlotter, J., Laible, I., Amend, B., Schilling, D., Anastasiadis, A., Kuehs, U., Nagele, U. and Stenzl, A. (2008) 'The periprostatic autonomic nerves--bundle or layer?', *European urology*, vol. 54, no. 5, pp. 1109–1116.

- Spradling, K., Khoyilar, C., Abedi, G., Okhunov, Z., Wikenheiser, J., Yoon, R., Huang, J., Youssef, R. F., Ghoniem, G. and Landman, J. (2015) 'Redefining the Autonomic Nerve Distribution of the Bladder Using 3-Dimensional Image Reconstruction', *The Journal of urology*, vol. 194, no. 6, pp. 1661–1667.
- Statistisches Bundesamt (2019) 'Fallpauschalenbezogene Krankenhausstatistik (DRG-Statistik) Operationen und Prozeduren der vollstationären Patientinnen und Patienten in Krankenhäusern (4-Steller) - 2018'.
- Stein, J. P. and Skinner, D. G. (2003) 'Results with radical cystectomy for treating bladder cancer: A 'reference standard' for high-grade, invasive bladder cancer', *BJU international*, vol. 92, no. 1, pp. 12–17.
- Stein, J. P. and Skinner, D. G. (2005) 'The role of lymphadenectomy in high-grade invasive bladder cancer', *The Urologic clinics of North America*, vol. 32, no. 2, pp. 187–197.
- Stein, J. P. and Skinner, D. G. (2006) 'Radical cystectomy for invasive bladder cancer: Long-term results of a standard procedure', *World journal of urology*, vol. 24, no. 3, pp. 296–304.
- Stenzl, A. (2009) 'Pelvic neuroanatomy and recovery of potency', *European urology*, vol. 55, no. 2, pp. 284–286.
- Stenzl, A., Anastasiadis, A. G., Corvin, S., Feil, G., Strasser, H. and Kuczyk, M. (2004) 'Vorteile der nerverhaltenden Beckenchirurgie. Tier experimentelle und klinische Ergebnisse', *Der Urologe. Ausg. A*, vol. 43, no. 2, pp. 141–149.
- Stenzl, A., Cowan, N. C., Santis, M. de, Jakse, G., Kuczyk, M. A., Merseburger, A. S., Ribal, M. J., Sherif, A. and Witjes, J. A. (2009) 'The updated EAU guidelines on muscle-invasive and metastatic bladder cancer', *European urology*, vol. 55, no. 4, pp. 815–825.
- Sylvester, R. J., Oosterlinck, W. and Witjes, J. A. (2008) 'The schedule and duration of intravesical chemotherapy in patients with non-muscle-invasive bladder cancer: a systematic review of the published results of randomized clinical trials', *European urology*, vol. 53, no. 4, pp. 709–719.
- Sylvester, R. J., van der Meijden, A. P. and Lamm, D. L. (2002) 'Intravesical Bacillus Calmette-Guerin Reduces the Risk of Progression in Patients with Superficial Bladder Cancer: A Meta-analysis of the Published Results of Randomized Clinical Trials', *The Journal of urology*, vol. 168, no. 5, pp. 1964–1970.
- Sylvester, R. J., van der Meijden, A. P. M., Oosterlinck, W., Witjes, J. A., Bouffoux, C., Denis, L., Newling, D. W. W. and Kurth, K. (2006) 'Predicting recurrence and progression in individual patients with stage Ta T1 bladder cancer using EORTC risk tables: a combined analysis of 2596 patients from

- seven EORTC trials', *European urology*, vol. 49, no. 3, 466-5; discussion 475-7.
- Takenaka, A., Murakami, G., Soga, H., Han, S.-H., Arai, Y. and Fujisawa, M. (2004) 'Anatomical analysis of the neurovascular bundle supplying penile cavernous tissue to ensure a reliable nerve graft after radical prostatectomy', *The Journal of urology*, vol. 172, no. 3, pp. 1032–1035.
- Takenaka, A., Soga, H., Murakami, G., Niikura, H., Tatsumi, H., Yaegashi, N., Tanaka, K. and Fujisawa, M. (2009) 'Understanding anatomy of "hilus" of detrusor nerves to avoid bladder dysfunction after pelvic surgery: Demonstration using fetal and adult cadavers', *Urology*, vol. 73, no. 2, pp. 251–257.
- Tal, R. and Baniel, J. (2005) 'Sexual function-preserving cystectomy', *Urology*, vol. 66, no. 2, pp. 235–241.
- Tewari, A., Takenaka, A., Mtui, E., Horninger, W., Peschel, R., Bartsch, G. and Vaughan, E. D. (2006) 'The proximal neurovascular plate and the tri-zonal neural architecture around the prostate gland: Importance in the athermal robotic technique of nerve-sparing prostatectomy', *BJU international*, vol. 98, no. 2, pp. 314–323.
- Thalmann, G. N., Markwalder, R., Shahin, O., Burkhard, F. C., Hochreiter, W. W. and Studer, U. E. (2004) 'Primary T1G3 bladder cancer: organ preserving approach or immediate cystectomy?', *The Journal of urology*, vol. 172, no. 1, pp. 70–75.
- Tilki, D., Reich, O., Svatek, R. S., Karakiewicz, P. I., Kassouf, W., Novara, G., Ficarra, V., Chade, D. C., Fritsche, H.-M., Gerwens, N., Izawa, J. I., Lerner, S. P., Schoenberg, M., Stief, C. G., Skinner, E., Lotan, Y., Sagalowsky, A. I. and Shariat, S. F. (2010) 'Characteristics and outcomes of patients with clinical carcinoma in situ only treated with radical cystectomy: an international study of 243 patients', *The Journal of urology*, vol. 183, no. 5, pp. 1757–1763.
- Turner, W. H., Danuser, H., Moehrle, K. and Studer, U. E. (1997a) 'The effect of nerve sparing cystectomy technique on postoperative continence after orthotopic bladder substitution', *journal of urology*, vol. 158, no. 6, pp. 2118–2122.
- Turner, W. H., Danuser, H., Moehrle, K. and Studer, U. E. (1997b) 'The effect of nerve sparing cystectomy technique on postoperative continence after orthotopic bladder substitution', *The Journal of urology*, vol. 158, no. 6, pp. 2118–2122.
- van den Bosch, S. and Alfred Witjes, J. (2011) 'Long-term cancer-specific survival in patients with high-risk, non-muscle-invasive bladder cancer and tumour progression: a systematic review', *European urology*, vol. 60, no. 3, pp. 493–500.

- van der Molen, A. J., Cowan, N. C., Mueller-Lisse, U. G., Nolte-Ernsting, C. C. A., Takahashi, S. and Cohan, R. H. (2008) 'CT urography: definition, indications and techniques. A guideline for clinical practice', *European radiology*, vol. 18, no. 1, pp. 4–17.
- Vianello, A., Costantini, E., Del Zingaro, M., Bini, V., Herr, H. W. and Porena, M. (2011) 'Repeated white light transurethral resection of the bladder in nonmuscle-invasive urothelial bladder cancers: systematic review and meta-analysis', *Journal of endourology*, vol. 25, no. 11, pp. 1703–1712.
- Wallace, D. and Harris, D. (1965) 'Delay in treating bladder tumors', *The Lancet*, vol. 286, no. 7407, pp. 332–334.
- Wallmeroth, A., Wagner, U., Moch, H., Gasser, T. C., Sauter, G. and Mihatsch, M. J. (1999) 'Patterns of metastasis in muscle-invasive bladder cancer (pT2-4): An autopsy study on 367 patients', *Urologia Internationalis*, vol. 62, no. 2, pp. 69–75.
- Walsh, P. C. and Donker, P. J. (2002) 'Impotence following radical prostatectomy: Insight into etiology and prevention. 1982', *The Journal of urology*, vol. 167, 2 Pt 2, pp. 1005–1010.
- Walsh, P. C. and Mostwin, J. L. (1984) 'Radical prostatectomy and cystoprostatectomy with preservation of potency. Results using a new nerve-sparing technique', *British journal of urology*, vol. 56, no. 6, pp. 694–697.
- Walsh, P. C. and Schlegel, P. N. (1988) 'Radical pelvic surgery with preservation of sexual function', *Annals of surgery*, vol. 208, no. 4, pp. 391–400.
- Wang, H., Luo, C., Zhang, F., Guan, J., Li, S., Yao, H., Chen, J., Luo, J., Chen, L. and Guo, Y. (2019) 'Multiparametric MRI for Bladder Cancer: Validation of VI-RADS for the Detection of Detrusor Muscle Invasion', *Radiology*, vol. 291, no. 3, pp. 668–674.
- Wilson, P. O., Barber, P. C., Hamid, Q. A., Power, B. F., Dhillon, A. P., Rode, J., Day, I. N., Thompson, R. J. and Polak, J. M. (1988) 'The immunolocalization of protein gene product 9.5 using rabbit polyclonal and mouse monoclonal antibodies', *British journal of experimental pathology*, vol. 69, no. 1, pp. 91–104.
- Wissing, M. D., Santos, F., Zakaria, A. S., O'Flaherty, A., Tanguay, S., Kassouf, W. and Aprikian, A. G. (2019) 'Short- and long-term survival has improved after radical cystectomy for bladder cancer in Québec during the years 2000–2015', *Journal of surgical oncology*, vol. 119, no. 8, pp. 1135–1144.
- Yamashita, S., Fujisawa, M., Kodama, K., Ishikawa, M. and Katagi, R. (2013) 'Use of preoperative 3D CT/MR fusion images and intraoperative CT to detect lesions that spread onto the brain surface', *Acta neurochirurgica*.

- Supplement*, vol. 118, pp. 239–244 [Online]. DOI: 10.1007/978-3-7091-1434-6_45.
- Yang, S. S.-D., Tsai, Y.-C., Chen, J.-J., Peng, C.-H., Hsieh, J.-H. and Wang, C. C. (2008) 'Modified transurethral incision of the bladder neck treating primary bladder neck obstruction in young men: a method to improve voiding function and to preserve antegrade ejaculation', *Urologia internationalis*, vol. 80, no. 1, pp. 26–30 [Online]. DOI: 10.1159/000111725 (Accessed 12 March 2021).
- Yuan, H., Qiu, J., Liu, L., Zheng, S., Yang, L., Liu, Z., Pu, C., Li, J., Wei, Q. and Han, P. (2013) 'Therapeutic outcome of fluorescence cystoscopy guided transurethral resection in patients with non-muscle invasive bladder cancer: a meta-analysis of randomized controlled trials', *PloS one*, vol. 8, no. 9, e74142.
- Yucel, S. and Baskin, L. S. (2003) 'Neuroanatomy of the ureterovesical junction: Clinical implications', *The Journal of urology*, vol. 170, no. 3, pp. 945–948.
- Zaitouna, M., Alsaid, B., Lebacle, C., Timoh, K. N., Benoît, G. and Bessedé, T. (2017) 'Origin and nature of pelvic ureter innervation', *Neurourology and urodynamics*, vol. 36, no. 2, pp. 271–279.
- Zippe, C., Nandipati, K., Agarwal, A. and Raina, R. (2006) 'Sexual dysfunction after pelvic surgery', *International journal of impotence research*, vol. 18, no. 1, pp. 1–18.

VI. Limitationen

Zu berücksichtigen ist, dass das im Rahmen dieser Arbeit untersuchte Gewebe aus Zystatoprostatektomiepräparaten entstammt. Peripher der gewählten chirurgischen Schnittführung gelegenes Gewebe, welches in situ belassen wurde, konnte folglich nicht in die Auswertung miteingeschlossen werden.

Darüber hinaus ist anzumerken, dass es sich bei den in dieser Studie untersuchten Präparate um vorerkrankte Organe handelt. Ein Einfluss der Grunderkrankung auf die in dieser Arbeit untersuchte Nerven-anatomie ist nicht mit letzter Sicherheit auszuschließen. Ferner konnten nur die Teile der Zystoprostatektomiepräparate in die Untersuchung eingeschlossen werden, welche nicht für die pathologische Diagnostik benötigt wurden. Konsekutiv standen bei jedem der untersuchten Präparate nur Teile des für die vorliegende Arbeit relevanten Untersuchungsgebiets zur Verfügung.

Aufgrund der unter III.2 beschriebenen Schwierigkeiten bei der immunhistochemischen Färbung der Harnblasenpräparate konnten zum Teil nicht alle Auszähleinheiten eines Mikroskopiepräparates ausgewertet werden. Ob es auch in den makroskopisch und mikroskopisch intakt erschienenen Auszähleinheiten, welche in die Auswertung eingeschlossen wurden, zu diskreten färbebedingten Gewebeschäden gekommen sein mag ist nicht sicher auszuschließen.

Abschließend sei erwähnt, dass sich das Kollektiv dieser Studie aus lediglich 13 Zystatoprostatektomiepräparaten zusammensetzt. Die Repräsentativität der erhobenen Daten ist vor diesem Hintergrund kritisch zu würdigen.

VII. Erklärung zum Eigenanteil

Die Arbeit wurde in der Klinik für Urologie des Universitätsklinikums Tübingen unter Betreuung von Herrn Professor Dr. med. Arnulf Stenzl durchgeführt.

Die Konzeption der Studie erfolgte in Zusammenarbeit mit Herrn Dr. Bastian Amend und Herrn Dipl. Biol. Jörg Hennenlotter.

Die Zystoprostektomiepräparate wurden von Herrn Dipl. Biol. Jörg Hennenlotter und mir aufbereitet und fixiert, sowie in Kooperation mit dem Institut für Pathologie des Universitätsklinikums Tübingen zugeschnitten. Die Paraffinierung der so gewonnenen Organlamellen erfolgte maßgeblich durch Frau Ursula Kühs. Der anschließende Zuschnitt der Großflächenschnitte, sowie deren immunhistochemische Färbung wurde nach Anleitung durch Frau Ursula Kühs von mir selbstständig durchgeführt. Die exemplarischen Hämatoxylin-Eosin-Färbungen wurden von Frau Ursula Kühs angefertigt.

Die Daten wurden von mir, nach Beratung durch Herrn Dr. Bastian Amend und Herrn Dipl. Biol. Jörg Hennenlotter, selbstständig erhoben. Die folgende statistische Auswertung der Daten wurde von mir selbstständig angefertigt.

Abbildung 7, sowie Abbildung 31 wurden von Herrn Peter-Michael Weber graphisch umgesetzt. Sämtliche anderen Abbildungen und Tabellen – sofern nicht anderweitig gekennzeichnet – wurden von mir persönlich angefertigt.

Ich versichere die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst zu haben und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel und Quellen verwendet zu haben.

VI. Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn PD Dr. Bastian Amend, Oberarzt an der Urologischen Klinik des Universitätsklinikums Tübingen, welcher mir während der Erarbeitung der vorliegenden Dissertation durchweg mit hilfreichen Ratschlägen und Denkanstößen, sowie konstruktiver Kritik in vielen wissenschaftlichen Gesprächen als Betreuer zur Seite stand.

Ferner gilt Herrn Dipl. Biol. Jörg Hennenlotter für seine wertvolle Anleitung und Betreuung, insbesondere bei konzeptionellen Überlegungen und meiner praktischen Tätigkeit im Labor, mein großer Dank. Ebenso sei ausdrücklich Frau Ursula Kühs aus dem Urologielabor genannt, welche mir geduldig und mit viel Engagement die nötige methodische Expertise und die erforderlichen Fertigkeiten zur Durchführung der Experimente vermittelte.

Zudem danke ich Herrn Peter-Michael Weber für die detaillierte und sorgfältige Anfertigung und Bereitstellung der Abbildung 7 und Abbildung 31.

Ebenso danke ich meinem Bruder Moritz Drechsel-Grau, welcher mir mit seiner großen statistischen Expertise bei der Auswertung der Ergebnisse wichtige Ratschläge und Denkanstöße lieferte.

Darüber hinaus gilt Herrn Professor Dr. Arnulf Stenzl mein besonderer Dank für die Überlassung des Themas und die Zurverfügungstellung sämtlicher Materialien und Räumlichkeiten, sowie für seine Betreuung der Arbeit durch diverse fruchtbare wissenschaftliche Gespräche und hilfreiche Anmerkungen.

Große Dankbarkeit empfinde ich zu guter Letzt gegenüber meinen Eltern, welche mir stets eine wichtige Stütze und Motivationsgeber waren und damit den Grundstein für eine gelungene Ausbildung und letztlich diese Arbeit bereitet haben.